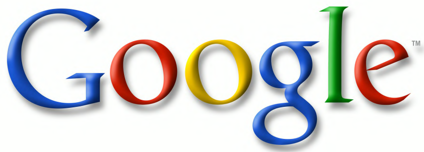



COUNTWAY LIBRARY
HC 3931 2



HANDBUCH

der

Physiologisch- und Pathologisch-

CHEMISCHEN ANALYSE.

HANDBUCH

der

Physiologisch- und Pathologisch-

CHEMISCHEN ANALYSE

für

Aerzte und Studirende.

Von

Felix Hoppe-Seyler.

Sechste Auflage

neu bearbeitet

von

F. Hoppe-Seyler und **H. Thierfelder**
Professor in Strassburg. Privatdocent in Berlin.

BERLIN 1893.
Verlag von August Hirschwald
N.W. Unter den Linden 68.



Vorrede zur sechsten Auflage.

Als die fünfte Auflage dieses Handbuchs nahezu vergriffen war, musste der Unterzeichnete sich die Frage vorlegen, ob es überhaupt zweckmässig sei, eine neue Auflage auszuarbeiten. Der hierfür zu bewältigende Stoff war in den 9 Jahren seit dem Erscheinen der fünften Auflage ausserordentlich gewachsen, und eine vollständige Neubearbeitung grosser Abschnitte des Buches unvermeidlich; es musste auch fraglich scheinen, ob ein Buch dieser Art jetzt noch zeitgemäss sei. Es sind in der Zwischenzeit mehrere Leitfaden für die medicinisch-chemischen Arbeiten erschienen, kurz gefasst und klar geschrieben. Sie schienen dem Unterzeichneten zu kurz, und wieder die Bücher, die nur einen Haupttheil, die Analyse des Harns behandeln, zu voluminös. Die Entscheidung in diesen Zweifeln hat Herr Dr. Thierfelder gegeben, indem er auf die Anfrage bezüglich der Bearbeitung der neuen Auflage seine Betheiligung an dieser Arbeit zusagte. Mehrere der Neubearbeitungen ganzer Abschnitte sind von Herrn Thierfelder ausgeführt und dann sind von ihm sowie vom Unterzeichneten im ganzen Buche die erforderlichen Verbesserungen und Einfügungen neuer Ergebnisse eingefügt. Die Einheitlichkeit des ganzen Buches wird erhalten geblieben sein. In den früheren Auflagen enthaltene Schilderungen der wichtigeren chemischen Operationen und Angaben über die Reagentien sind in dieser Auflage weggelassen, nur eine kurze Beschreibung der für die medicinische Chemie so wichtigen optischen Untersuchungsmethoden und der hierzu verwendeten Apparate ist im Anhang angefügt. Die Reagentien werden jetzt von den chemischen Fabriken fast ohne Ausnahme in der wünschenswerthen Reinheit geliefert, so dass die Beschreibung ihrer Darstellung und Prüfung auf Reinheit nicht mehr nöthig scheint.

Die Disposition des Buches ist im Uebrigen die frühere geblieben. Ueber dem Texte sind auf jeder Seite die auf derselben behandelten Paragraphen durch Zahlen angegeben. Die erste Abtheilung ist nicht unbedeutend vermehrt, aber der Umfang des ganzen Buches derselbe geblieben wie in der fünften Auflage.

Strassburg, den 11. December 1892.

F. Hoppe-Seyler.

Inhaltsübersicht.

I. Abtheilung.

Seite

Zusammensetzung, Eigenschaften und Methoden des Nachweises der einzelnen anorganischen und organischen Stoffe.

II. Abtheilung.

Qualitative und quantitative Untersuchung thierischer Flüssigkeiten, Gewebe, Concretionen, Aschen.



I. Abtheilung.

Zusammensetzung, Eigenschaften und Methoden des Nachweises der einzelnen anorganischen und organischen Stoffe.

---

1. Anorganische Stoffe.

1. Jeder Theil eines thierischen oder menschlichen Körpers, sei er eine mit Flüssigkeit imbibirte geformte Masse, wie Fleisch, Drüsensubstanz, sei er wie z. B. die Secrete eine Flüssigkeit, lässt sich in Wasser und eine Anzahl fester Körper zerlegen. In jedem Organe eines Thieres, in jeder seiner Flüssigkeiten sind C, H, N, O, S in verschiedenen chemischen Combinationen enthalten; alle hinterlassen ferner beim Glühen mehr oder weniger Asche. Die chemischen Stoffe, welche man als Bestandtheile des Körpers kennen gelernt hat, werden in organische und anorganische eingetheilt, je nachdem dieselben Kohlenstoff enthalten oder nicht. Die Aschen können abgesehen von der Kohlensäure nie organische Stoffe enthalten, aber sie stellen durchaus nicht immer die Gesammtheit der anorganischen Stoffe dar, welche in der geglühten Substanz enhalten waren, da Ammoniakverbindungen beim Erhitzen leicht verflüchtigt werden, auch Schwefelsäure, Salzsäure, Phosphorsäure, wenn sie nicht mit feuerbeständigen Basen verbunden sind, beim Glühen verdampfen oder sich zerlegen. Die Bildung der Aschen ist sonach zunächst abhängig vom Vorhandensein von in schwacher Glühhitze nicht flüchtigen Metallen.

Die Betrachtung der anorganischen Stoffe ist der der organischen im Folgenden vorausgeschickt, da sie eine ziemlich gut abgegrenzte Classe bilden, soweit sie die Bestandtheile der Aschen sind. Das Ammoniak und seine Verbindungen bilden dann gleichsam den Uebergang zu den organischen Stoffen, aus denen es bei der Zersetzung derselben fast immer entsteht, wenn diese Stoffe Stickstoff enthalten.

Die sämmtlichen in diesem Lehrbuche angegebenen Formeln beziehen sich auf die Atomgewichte H = 1, C = 11,97, O = 15,96, N = 14,01 u. s. w., vergl. im Anhang Tabelle II.

Die Alkalimetalle.

2. Kalium und Natrium finden sich fast in jeder thierischen Asche neben einander; selten ist auch Lithium nachgewiesen. Die Verbindungen der Alkalimetalle, welche in den thierischen Organen und den daraus gewonnenen Aschen vorkommen, sind fast sämmtlich in Wasser leicht löslich, werden aus ihren wässerigen Lösungen weder durch kohlensaures noch durch oxalsaures Ammoniak gefällt, sind in der schwachen Rothglühhitze nicht bemerkbar flüchtig, schmelzen dagegen in der Weissglühhitze und verflüchtigen sich dann allmählich unter Nebelbildung. Am Flüchtigsten sind die kohlensauren und die Chorverbindungen, weniger die schwefelsauren und die phosphorsauren Salze dieser Metalle. Am Leichtesten flüchtig sind die Kaliumverbindungen, am Wenigsten die Natriumverbindungen. Lithium steht in der Mitte. (Bunsen, Ann. d. Chem. u. Pharm. Bd. 111. S. 262.)

Kalium K.

3. Kalium befindet sich besonders in der Asche der Muskeln, rothen Blutkörperchen, der Nerven, des Eidotter, der Milch, des Harns verbunden mit Chlor oder Schwefelsäure oder Phosphorsäure.

Man erkennt das Kalium in den Lösungen seiner Verbindungen an seinem Verhalten 1) gegen Platinchlorid, 2) gegen Weinsäure, 3) gegen Natriumnitrit, Cobaltchlorid und Essigsäure. Die Kalisalze geben nämlich in nicht sehr verdünnten Lösungen 1) mit einigen Tropfen Platinchlorid versetzt einen orangegelben fein krystallinischen Niederschlag von Kaliumplatinchlorid, der in Wasser schwer, in Säuren leichter löslich, in Alkohol und Aether fast ganz unlöslich ist; 2) mit Weinsäure einen weissen krystallinischen Niederschlag von saurem weinsauren Kali, wenn die Lösung ziemlich neutral oder von organischen Säuren sauer war. Das saure weinsaure Kali löst sich in 180 Thl. kaltem Wasser, ist also die Lösung sehr verdünnt, so entsteht kein Niederschlag. Ist die Lösung nicht sehr concentrirt, so bildet sich der Niederschlag nur allmälig; Umschütteln beschleunigt seine Bildung. Abfiltrirt, getrocknet und geglüht giebt dieser Niederschlag einen kohligen Rückstand, der mit Wasser befeuchtet Lackmus stark blau färbt und mit Säuren braust. 3) 10 procentige Lösung von Natriumnitrit mit Cobaltchlorid und Essigsäure gemischt giebt mit wässriger Lösung eines Kaliumsalzes sofort gelben krystallinischen Niederschlag, wenn die Mischung mindestens $^1/_{1000}$ Kalium enthält; bei geringerem Gehalte gelbe Lösung. Der Niederschlag ist unlöslich in Alkohol. Aus nicht allzuverdünnten Lösungen wird

Kalium durch Phosphormolybdänsäure gefällt, der Niederschlag ist gelb und feinpulverig wie phosphormolybdänsaures Ammoniak.

Kaliumverbindungen färben die Spiritus- oder Gasflamme violett. Zu dieser Prüfung glüht man zunächst das zum Oehr umgebogene Ende eines reinen dünnen Platindrahtes in der Flamme, bis keine leuchtenden Dämpfe mehr davon ausgehen, taucht ihn dann in die zu prüfende möglichst concentrirte Lösung oder nach Anfeuchten mit einem Tröpfchen Wasser in die Asche selbst, welche zu untersuchen ist, bringt dann das Oehr des Drahtes in den äusseren Saum der Flamme und beobachtet die davon ausgehende Färbung der letzteren. Ist Kalium fast allein zugegen, so erhält die Flamme über dem Platinöhr die bezeichnete violette Färbung, ist dagegen viel Natrium neben Kalium in der geprüften Substanz, so kann man das intensive Natriumlicht dadurch vom Auge abhalten, dass man die Flamme durch ein mit einer passend verdünnten Indigolösung gefülltes Glas mit parallelen Wandungen oder ein Hohlprisma beobachtet oder noch einfacher durch ein tiefblaues Kobaltglas. Dies letztere sowie die Indigolösung absorbiren das Natriumlicht stark, lassen dagegen das Kaliumlicht wenig geschwächt hindurchgehen.*)

Die spectralanalytische Untersuchung des Kalium zeigt helle Linie im Roth dicht vor der Spectrallinie B.

Bei allen Untersuchungen auf Alkalimetalle u. s. w. durch Flammenfärbung ist es unerlässlich, dass keine organische Stoffe, auch keine Kohle in der zu prüfenden Substanz enthalten sind, sowie dass die Gas- oder Spiritusflamme mit bläulichem Lichte brennt.

Natrium Na.

4. Natrium befindet sich besonders reichlich im Blutplasma, Harn, Pancreassecret, Galle des Menschen und der meisten Thiere, in serösen Transsudaten gebunden an Chlor, Schwefelsäure, Phosphorsäure, Kohlensäure, und andere organische Stoffe, als Milchsäure, Harnsäure u. s. w.

Selbst die concentrirten Lösungen von Natriumverbindungen werden durch Platinchlorid oder Weinsäure oder Phosphormolybdänsäure nicht gefällt. Eine frisch bereitete Lösung von antimonsaurem Kali giebt in nicht sehr verdünnten, neutralen oder schwach alkalischen Lösungen von Natronsalzen einen weissen krystallinischen Niederschlag von antimonsaurem Natron. Dieser Niederschlag löst sich in 300 bis 400 Thl. kaltem, leichter in heissem Wasser.

Den besten Nachweis des Natrium liefert die strahlend gelbe Flamme, welche man erhält, wenn man in gleicher Weise eine natrium-

*) Cartmell, Philos. Magaz. Novbr. 1858.

haltige Substanz in die Flamme bringt, wie es oben bezüglich der gleichen Prüfung auf Kalium (im vorigen Paragraphen) angegeben ist. Diese Reaction ist so scharf, dass nicht mehr sichtbare Staubtheilchen am Platinöhr diese Färbung deutlich erkennbar erzeugen, wenn gleich sehr vorübergehend. Ist in einer Substanz nicht zu geringe Spur von Natrium enthalten, so tritt dauerndes und intensiv strahlendes Leuchten ein. Beleuchtet man mit der gelben Natriumflamme Krystalle von saurem chromsaurem Kali oder eine mit Quecksilberjodid bestrichene Papierfläche, so erscheinen erstere farblos, letztere weiss.

Lithium Li.

5. Lithium ist mittelst Spectralanalyse in Fleisch, Blut und Milch von Thieren, die lithiumhaltiges Futter genossen, einige Male in Spuren nachgewiesen.

Es färbt die Gas- oder Weingeistflamme intensiv roth, wenn es auf die oben § 3 geschilderte Weise im Oehr des Platindrahtes geprüft wird.

Zur Prüfung einer Asche auf Spuren von Lithium fällt man zuerst durch Barytwasser die Phosphorsäure, filtrirt, und fällt im Filtrate den Baryt durch verdünnte Schwefelsäure, erwärmt auf dem Wasserbade, filtrirt, dampft das Filtrat ein und erhitzt den Rückstand zur Entfernung der freien Schwefelsäure, indem man zuletzt einige Stückchen kohlensaures Ammoniak in den Tiegel bringt. Nach dem Erkalten laugt man die Masse mit absolutem Alkohol aus, filtrirt, dampft ein und prüft den Rückstand mittelst Spectralanalyse. Helle Linie ungefähr auf der Mitte zwischen den Spectrallinien des Sonnenspectrums B und C.

Calcium und Magnesium.

6. Calcium und Magnesium finden sich fast in allen Theilen der thierischen Organe. Strontium kommt gleichfalls bei Fütterung mit Strontium enthaltenden Nährstoffen vor. Calcium und Magnesium unterscheiden sich von den Alkalimetallen durch die Unlöslichkeit ihrer neutralen kohlensauren und phosphorsauren Salze in Wasser und grössere Feuerbeständigkeit.

Calcium Ca. In Knochen und Zahnsubstanzen reichlich abgelagert, in geringerer Menge in jeder thierischen Flüssigkeit, in vielen pothologischen Producten, Verkalkungen an Arterien, im Knorpel, Tuberkelmassen, in Venensteinen, Harn-, Gallen-, Speichel-, Pancreassteinen reichlich. Das Calcium betrachtet man als in diesen Ablagerungen gebunden an Phosphorsäure, Kohlensäure, Fluor, Chlor,

in den Lösungen als gebunden an Phosphorsäure oder Kohlensäure oder organische Säuren, in den Fäces gebunden an Schwefelsäure und organische Säuren sowie Kohlensäure und Phosphorsäure.

Kalksalze werden gefällt:

1) Durch Oxalsäure oder oxalsaures Ammoniak in neutralen, alkalischen oder durch Essigsäure sauren Lösungen. Der weisse, sehr feinkörnige, zuweilen schwer filtrirbare Niederschlag, oxalsaurer Kalk, ist unlöslich in Wasser oder Alkohol, wird beim vorsichtigen Glühen ohne Verkohlung in kohlensauren Kalk, beim heftigen Weissglühen besonders im Luft- oder Wasserdampfstrom in Aetzkalk verwandelt.

2) Durch neutrale kohlensaure Alkalien in neutraler oder alkalischer Lösung. Der feine, weisse Niederschlag, kohlensaurer Kalk, ist leicht löslich in Säuren unter Aufbrausen. Saure kohlensaure Alkalien fällen die Kalksalze nicht oder nicht vollständig, dagegen entsteht nach ihrem Zusatz ein Niederschlag beim längeren Kochen der Mischung.

3) Durch phosphorsaures Natron in neutraler oder alkalischer Lösung. Der weisse, flockige, gallertartige Niederschlag, phosphorsaurer Kalk, ist leicht löslich in Säuren, auch in citronensaurem Ammoniak, unlöslich in Alkalilösungen.

4) Durch Schwefelsäure oder schwefelsaure Salze in nicht zu verdünnten wässerigen, vollständig in weingeistigen Lösungen. Der bald krystallinisch werdende Niederschlag, schwefelsaurer Kalk, ist löslich in 400 bis 500 Theilen Wasser, etwas leichter in Säuren oder concentrirten Salzlösungen, unlöslich in Alkohol.

Die salpetersauren und Chlorverbindungen des Calcium oder andere Kalksalze mit Salzsäure befeuchtet färben die Gas- oder Weingeistflamme gelbroth.

Magnesium Mg. findet sich in geringer Quantität als fast steter Begleiter des Calcium in thierischen Organen; reichlich ist es gewöhnlich im Harne, auch in den Fäces enthalten, fast stets in Verbindung mit Phosphorsäure, oft als phosphorsaure Magnesia-Ammoniak in Krystallen (fauler Harn, Fäces etc.). Die Lösungen der Magnesium-Verbindungen werden durch schwefelsaure oder oxalsaure Alkalisalze aus verdünnten Lösungen nicht gefällt, dagegen treten Fällungen ein:

1) Bei Gegenwart von Chlorammonium durch Aetzammoniak und phosphorsaures Natron als allmälig entstehender, krystallinischer, in reinem Wasser sehr wenig, in Säuren auch in Essigsäure leicht löslicher weisser Niederschlag, phosphorsaure Magnesia-Ammoniak.

2) Durch kohlensaures Natron in neutraler Lösung bei Abwesenheit von Ammoniakverbindungen. Die Fällung ist nur durch Kochen

der Mischung vollständig zu erhalten. Der bei gewöhnlicher Temperatur dargestellte weisse gallertige Niederschlag ist basische kohlensaure Magnesia.

Bei Gegenwart einer hinreichenden Menge von Ammoniaksalzen, z. B. Chlorammonium, entsteht in Lösungen der Magnesiasalze durch kohlensaures Kali oder Natron zunächst kein Niederschlag. Saure kohlensaure Alkalien fällen Magnesiasalze gar nicht; durch kohlensaures Ammoniak werden sie theilweise gefällt und bei Gegenwart von Chlorammonium tritt erst sehr spät schwache Fällung ein.

3) Durch Aetzkali, Natron, Kalk- oder Barytwasser wird aus Lösungen der Magnesiasalze Magnesiahydrat als flockiger Niederschlag ausgeschieden. Bei der Temperatur der Gas- oder Spiritusflamme giebt Magnesium keine leuchtende Flamme.

Eisen und Mangan.

7. Eisen findet sich im rothen Farbstoffe des Blutes der Wirbelthiere, daher relativ reichlich als Eisenoxyd in der Asche des Blutes, welche durch dasselbe roth gefärbt erscheint. Ausser dem Blut ist besonders die Galle noch eisenhaltig, doch ist die Quantität hier schon sehr unbedeutend und in den übrigen thierischen Flüssigkeiten und Geweben zeigen sich kaum Spuren davon, so z. B. im Harne. Im Inhalte des Darmcanals kann es sich reichlich finden, da die Speisen fast stets eisenhaltig sind. In Leber und Lymphdrüsen kommen Ablagerungen von Ferrihydrat pathologisch vor.

Bei der Prüfung auf Eisen hat man sehr darauf zu achten, dass die Reagentien und das benutzte Filtrirpapier eisenfrei seien, und dass kein Staub Eisenpartikel in die Flüssigkeit trägt.

In Leichen hat sich theils im Darmcanale, theils in verschiedenen Organen oft Vivianit, phosphorsaures Eisenoxydoxydul, gefunden, das einer Zersetzung der organischen Stoffe durch Fäulniss und Reduction des Eisenoxydes wohl stets seine Entstehung verdankt.

Mangan findet sich zuweilen in geringen Spuren als Begleiter des Eisens in der Blutasche und in der Asche der Galle, doch ist sein Vorkommen in diesen Aschen durchaus nicht konstant. In Reagentien besonders Alkalien sind Spuren von Mangan sehr häufig.

Beide Metalle sind in den hier in Betracht kommenden Verbindungen durchaus nicht flüchtig in der heftigsten Weissglühhitze; sie veranlassen also auch, wenn man sie in die Flamme des Brenners bringt, keine besondere Flammenfärbung; trotzdem kann es bei Veraschungen leicht geschehen, dass durch die entweichenden Gase wägbare Quantitäten von

Eisenoxyd fortgerissen werden. Das Eisen findet sich in den Aschen nach völligem Verbrennen der Kohle stets als Eisenoxyd frei oder an Phosphorsäure gebunden. Das Mangan wandelt sich, wenn die übrigen Bestandtheile seiner Verbindungen flüchtig sind, beim Glühen in Oxyduloxyd um und so, meint man, sei es auch in Aschen enthalten; ist jedoch kohlensaures Alkali zugegen, so geht es beim Glühen an der Luft in Mangansäure über und dies liefert beim Auslaugen der Asche mit Wasser einen flockigen Niederschlag von Manganhyperoxydhydrat.

Eisen Fe.

8. A. Lösungen, welche Eisen als Ferrosum enthalten, werden gefällt:

1) Durch ätzende Alkalien flockig weiss (Ferrohydrat); der Niederschlag wird schnell grün, endlich rothbraun (Ferrihydrat).

2) Durch Schwefelammonium in neutraler Lösung als flockiger, schwarzer Niederschlag, der sich aus verdünnten Lösungen allmälig, in der Wärme schneller absetzt; so lange die Ausfällung noch nicht völlig beendet ist, erscheint die Flüssigkeit grün gefärbt. Der Niederschlag, Schwefeleisen, ist leicht zerlegbar durch Mineralsäuren, wird an der Luft roth durch Oxydation zu basisch schwefelsaurem Eisenoxyd. In Schwefelammonium ist das Schwefeleisen völlig unlöslich.

3) Durch Ferrocyankalium in neutraler oder salzsaurer Lösung. Der nur bei völliger Abwesenheit von freiem Sauerstoff weisse Niederschlag wird an der Luft schnell zu Berliner Blau umgewandelt.

4) Durch Ferricyankalium in neutraler oder salzsaurer Lösung. Der blaue Niederschlag ist Turnbullsblau.

Die Eisenoxydulverbindungen nehmen aus der Luft Sauerstoff auf und gehen allmälig in Oxydverbindungen über. Dieselbe Umwandlung wird durch Zusatz von übermangansaurem Kali oder durch Kochen mit Salpetersäure schnell erreicht.

B. Die Lösungen, welche das Eisen als Ferriverbindung enthalten, werden gefällt:

1) Durch ätzende oder kohlensaure Alkalien. Der flockige, rothbraune, gallertige Niederschlag enthält Alkali und besteht im Uebrigen aus Ferrihydrat, ist unlöslich in überschüssigem Alkali und verwandelt sich beim Erhitzen in pulveriges Fisenoxyd.

Befindet sich in der Lösung Weinsäure in hinreichender Menge, so treten diese Fällungen nicht ein.

2) Durch Schwefelammonium in neutraler oder alkalischer Lösung (auch bei Gegenwart von Weinsäure). Der schwarze Niederschlag

(grüne Färbung bei starker Verdünnung) besteht aus Schwefeleisen; der Bildung des Letzteren geht eine Reduction des Oxydes zu Oxydul voran, bei der zugleich Schwefel abgeschieden wird.

3) Durch Ferrocyankalium in neutraler oder salzsaurer Lösung. Der blaue Niederschlag, Berliner Blau, wird durch Aetzalkali in Ferrihydrat und Ferrocyanmetall zerlegt.

4) Durch Gallustinctur in neutraler Lösung schwarz (Dinte).

5) Durch phosphorsaures Natron in neutraler oder essigsaurer Lösung. Der gelblichweisse, flockige Niederschlag, phosphorsaures Eisenoxyd, ist unlöslich in Essigsäure, etwas löslich in überschüssigem Ammoniak, phosphorsaurem Natron oder essigsaurem Eisenoxyd.

6) Durch bernsteinsaures oder benzoësaures Ammoniak in neutraler Lösung; der rothbraune Niederschlag ist bernsteinsaures oder benzoësaures Eisenoxyd.

7) Durch Digeriren mit kohlensauren alkalischen Erden; der Niederschlag ist Ferrihydrat und basisches Salz.

Durch Schwefelcyankalium werden selbst sehr verdünnte Lösungen von Eisenoxyd schön blutroth gefärbt, wenn die Lösung etwas freie Salzsäure enthält.

Schwefelwasssertoff fällt Eisen aus seinen Lösungen in verdünnten Mineralsäuren nicht, reducirt aber beim Erwärmen das Oxyd zu Oxydul unter Abscheidung von Schwefel. Metallisches Zink reducirt das Eisenoxyd in salzsaurer Lösung schnell zu Oxydul.

Mangan Mn.

9. Das Manganoxydul wird aus seinen Lösungen gefällt:

1) Durch Kali- oder Natronlauge als weisses Hydrat, welches an der Luft schnell in braunes Oxyduloxydhydrat übergeht. Durch Aetzammoniak wird das Oxydul bei Gegenwart von Ammoniaksalzen und Ausschluss der Luft nicht gefällt.

2) Durch Schwefelammonium in concentrirter Lösung sogleich, in verdünnter allmälig als gelblicher oder fleischrother Niederschlag, Schwefelmangan, welcher in Schwefelammonium unlöslich ist, an der Luft bald braun wird durch Umwandlung in Oxyduloxydhydrat. Bei Gegenwart von viel Aetzammoniak ist Mangan schwer aus verdünnten Lösungen durch Schwefelammonium fällbar.

3) Durch kohlensaure oder phosphorsaure Alkalien, weisser Niederschlag. Durch kohlensaure alkalische Erden wird es nicht gefällt.

Aus essigsaurer Lösung wird Mangan durch Schwefelwasserstoff nicht gefällt, auch nicht durch kohlensauren Baryt aus salzsaurer Lösung.

Eine Probe einer manganhaltigen Substanz mit etwas trockner Soda und Salpeter auf Platinblech heftig geglüht, giebt eine blaugrüne geschmolzene Masse (mangansaures Alkali, sehr scharfe und sichere Probe).

Erhitzt man eine manganhaltige Substanz mit etwas syrupöser Phosphorsäure und Salpeter im Porzellantiegel, so erhält man eine schöne, violette, geschmolzene Masse von phosphorsaurem Manganoxyd,

Bringt man in einem Probirröhrchen auf etwas Bleihyperoxyd oder Mennige etwas von einer chlorfreien manganhaltigen Flüssigkeit, fügt verdünnte Salpetersäure hinzu und erhitzt zum Sieden, so tritt schöne violette Färbung der Flüssigkeit durch gebildete Uebermangansäure ein.

Kupfer Cu.

10. Das Vorkommen von Kupfer in Leber und Galle der Menschen und Säugethiere ist fast constant, im Blute von Menschen ist es öfter in Spuren nachgewiesen; im Blute einiger Krebs- und Schneckenarten, auch im Blute von Cephalopoden ist es reichlich und constant gefunden.

In welcher Verbindung das Kupfer in diesen thierischen Theilen sich befindet, ist unbekannt.

Bei Darstellung der Aschen kupferhaltiger organischer Massen durch Glühen bei Luftzutritt wird es stets als Oxyd gewonnen.

Die Lösungen des Kupferoxydes werden gefällt:

1) Durch Kali- oder Natronlauge bei gewöhnlicher Temperatur als gelatinöser, flockiger, blauer Niederschlag, Kupferoxydhydrat. Dieser Niederschlag entsteht nicht bei Gegenwart von viel Ammoniak oder gewisser organischer Stoffe. Das Oxydhydrat verwandelt sich beim Kochen der Flüssigkeit, in der es suspendirt ist, in schwarzes, feinflockiges oder pulveriges Oxyd mit weniger Hydratwasser.

2) Durch Schwefelwasserstoff in verdünnter, saurer, neutraler Lösung als schwarzes, flockiges, in Wasser oder Schwefelammonium ein wenig lösliches Schwefelkupfer.

3) Durch kohlensaures Natron als grünlich blaues, basisch kohlensaures Kupferoxyd.

4) Durch Ferrocyankalium als kapuzinerbraunes Ferrocyankupfer (in sehr verdünnter Lösung entsteht nur braune Färbung derselben).

5) Durch metallisches Eisen oder Zink als metallisches Kupfer, welches das in die Lösung gestellte Eisen- oder Zinkstück als cohärente Schicht überzieht.

6) Durch Traubenzucker in alkalischer Lösung und Abwesenheit von Ammoniak als gelbes oder rothes Kupferoxydul.

Aetzammoniak oder kohlensaures Ammoniak bewirken in neutralen oder sauren Lösungen zunächst Niederschläge, beim Zusatz eines Ueberschusses jedoch eine noch bei geringem Kupfergehalte der Lösung bemerkbare blaue Färbung der wieder klar gewordenen Flüssigkeit durch gelöstes Kupferoxydammoniak.

Alle Kupfersalze färben besonders nach Zusatz von etwas Salzsäure die Gas- oder Weingeistflamme schön grün.

Den Nachweis siehe im folgenden Paragraphen.

Blei Pb.

11. Blei ist hier und da im Blute in Spuren nachgewiesen, zuweilen auch in der Leber. Bei Bleikrankheiten ist es in den Knochen, Muskeln, Leber, Harn gefunden.

So wie das Kupfer wird das Blei durch Schwefelwasserstoff aus nicht zu saurer Lösung als Schwefelmetall ausgeschieden. Durch Elektrolyse erhält man es (wie das Kupfer) selbst aus den verdünntesten Lösungen am positiven Pole als Metall. In Salpetersäure wird das Blei ebenso wie Schwefelblei leicht gelöst, während es durch Salzsäure aus concentrirter, durch Schwefelsäure auch aus verdünnter Lösung in Verbindung mit diesen Säuren abgeschieden wird. In kochendem Wasser löst sich das Chlorblei ziemlich reichlich.

Um Kupfer oder Blei in Flüssigkeiten oder Organen nachzuweisen, bedient man sich mit Vortheil der Elektrolyse: Man mischt die zu prüfende Substanz, die möglichst mechanisch vorher zu zerkleinern ist, in einer Porzellanschale mit verdünnter Salzsäure und trägt unter Erhitzen der Mischung auf dem Wasserbade allmälig kleine Portionen chlorsaures Kali ein, so lange bis die Flüssigkeit hellgelb geworden ist und die organischen Stoffe nur gelblichweisse, flockige oder faserige Massen hinterlassen haben. Man filtrirt jetzt ab, wäscht den Niederschlag einige Male mit heissem Wasser aus und engt die Flüssigkeit im Wasserbade auf ein kleines Volumen ein (färbt sie sich dabei dunkelbraun, so fügt man noch ein wenig chlorsaures Kali hinzu). Man giesst dann die concentrirte, noch saure Lösung in eine Flasche, deren Boden abgesprengt und durch ein wasserdicht übergebundenes Stück gutes vegetabilisches Pergament ersetzt ist, und hängt diese Zelle in einem Becherglase von etwas grösserem Durchmesser, welches mit verdünnter Schwefelsäure zum Theil gefüllt ist, so auf, dass das Niveau der Flüssigkeit in der Zelle und dem Becherglase ungefähr gleich hoch steht, bringt ein Stück Platinblech an einem hinreichend starken Platindraht befestigt in der Weise unter den Pergamentboden der Zelle,

dass es horizontal und ziemlich dicht an dem Boden anliegt, ein gleiches mit Platindraht verbundenes Platinblech in die Zelle ein, so dass es horizontal über dem Pergament liegt, und verbindet den ersteren Draht mit dem positiven, den letzteren mit dem negativen Pole einer galvanischen Batterie von etwa 4 Grove'schen oder Bunsen'schen Elementen. Sofort soll sich Entwickelung von Gasen an beiden Elektroden einstellen; ist sie zu stürmisch, so schaltet man ein Element fürs Erste aus. Man lässt etwa 6 Stunden den Strom in Thätigkeit (ist die Quantität der Flüssigkeit gross, etwas länger, ist sie klein, so sind ein paar Stunden völlig ausreichend), unterbricht dann die Leitung, nimmt Platindraht und Blech aus der Zelle, spült ein paar Male mit destillirtem Wasser ab und stellt sie dann in ein Probirglas in verdünnte Salpetersäure, erhitzt zum Kochen, giesst die Lösung ab und verdunstet in einer kleinen Schale auf dem Wasserbade. Ist Blei vorhanden, so giebt der Rückstand mit einem Tropfen verdünnter Schwefelsäure einen weissen Niederschlag, der abfiltrirt, mit dem Filter getrocknet und mit Soda auf Kohle mittelst des Löthrohrs zum Schmelzen erhitzt regulinisches Blei giebt, welches durch Waschen, Schlemmen mit Wasser in einer Reibschale gereinigt und durch Reiben zum Blech ausgewalzt wird. Ist dagegen Kupfer zugegen, so giebt der obige Rückstand auch nach dem Zusatz von Schwefelsäure (behufs Prüfung auf Blei) mit Aetzammoniak im Ueberschusse dunkelblaue Lösung und nach dem Verdunsten dieser Lösung und Ansäuern mit Salzsäure mit Ferrocyankalium einen braunen Niederschlag. Schon beim Herausnehmen der Elektrode aus der Zelle erkennt man, ob eine Ablagerung eines rothen oder grauen Metalls stattgefunden hat. Die oben angegebenen Reactionen der Metalle dienen zur weiteren Bestätigung. Eingehende Untersuchungen und Vergleichung der Methoden zum Nachweis von Blei, Kupfer, Quecksilber siehe V. Lehmann, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Band 6. S. 1. und S. 528.

Quecksilber Hg.

12. Nach langem Mercurgebrauche findet sich Quecksilber in Leber und Harn der Menschen, wenn auch nicht constant.

Die Flüssigkeit des Quecksilbers bei gewöhnlicher Temperatur und die leichte Verbindung mit edlen Metallen, sowie seine Flüchtigkeit unter der Glühhitze machen es leicht, dies Metall von anderen zu unterscheiden und zu trennen. Man bedient sich zu seinem Nachweis entweder derselben Methode, wie sie im vorigen Paragraphen für Kupfer und Blei vorgeschrieben ist, nur mit dem Unterschiede, dass bei der Elektrolyse ein kleines Goldblättchen als negative Elektrode in die

Zelle gesenkt wird, oder scheidet nach Ludwig das Quecksilber durch Schütteln mit Zinkstaub ab. Hat sich bei Anwendung ersterer Methode nach 6—24stündiger Einwirkung des Stromes das Goldblättchen heller gefärbt, so ist die Anwesenheit des Quecksilbers wahrscheinlich. Man unterbricht nach der angegebenen Zeit den Strom, wäscht das Goldblättchen mit einigen Tropfen Wasser, bringt es mit seinem zusammengebogenen Zuleitungsdraht in ein enges Glasrohr, welches am anderen Ende in ein Capillarrohr ausgezogen ist, und schmilzt dann das weitere Ende der Röhre zu, so jedoch, dass das Goldblättchen selbst in diesem zugeschmolzenen Theil der Röhre sich befindet, und hat sich nach etwa 5 Minuten ein Beschlag im kälteren Theile der Röhre gebildet, so treibt man diesen in das Capillarrohr, erhitzt nochmals das Gold und treibt das etwa noch entwickelte Quecksilber gleichfalls in das Capillarrohr. Dann schmilzt man den Theil der Röhre, welcher das Goldplättchen enthält, ab, indem man die Röhre in der Flamme etwas auszieht, lässt erkalten, schneidet die ausgezogene Spitze ab und bringt ein wenig Jod in das Röhrchen, schmilzt dann wieder zu und treibt durch Erwärmen das Jod zu dem Beschlag im Innern des Röhrchen, den man für Quecksilber hält. Erscheinen dabei ausser braunen auch noch rothe und gelbe Ringe (Jodquecksilber), welche durch Erhitzen leicht weggetrieben, sich an anderen Orten des Röhrchen wieder niederschlagen, so zeigt dies mit Sicherheit das Vorhandensein von Quecksilber an, und diese Reaction ist so fein, dass sie selbst eintreten kann, wenn der Quecksilberbeschlag im Röhrchen nicht deutlich sichtbar ist.*) Das viel einfachere Verfahren von E. Ludwig mehrfach modificirt vergl. Paschkis, Zeitschrift f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 495.

Säuren.

Schwefelwasserstoff H_2S.

13. Als ziemlich constanter Bestandtheil findet sich Schwefelwasserstoff in dem Gemisch der Gase im Dickdarm, oft auch im übrigen Darme, er bildet sich bei der Fäulniss in Leichentheilen, sowie in brandigen Abscessen, Pyopneumothorax, faulendem Eiter auf Geschwüren. In Verbindung mit Alkalimetallen erhält man ihn beim Kochen vieler schwefelhaltiger, organischer Substanzen mit Alkalilauge oder beim Glühen von schwefelsauren Salzen mit Kohle bei gehindertem Luftzutritt.

*) Im Wesentlichen nach Schneider. Ueber das chemische und elektrolytische Verhalten des Quecksilbers u. s. w. Sitzungsbericht d. Wiener Akad. d. Wiss. Bd. 40. S. 239. 1860.; vergl. ferner E. Ludwig und A. Mayer, Wien. med. Jahrbücher 1877 und 1880.

Schwefelwasserstoff ist ein farbloses, wie faule Eier riechendes, vom Wasser reichlich absorbirbares Gas; es färbt feuchtes, blaues Lackmuspapier roth (an der Luft getrocknet wird dies wieder blau), brennt mit bläulicher Flamme und wird durch Chlor, Ozon u. s. w. zu Wasser resp. Salzsäure oxydirt unter Abscheidung oder gleichzeitiger Oxydation des Schwefels. Mit Alkalien verbindet sich Schwefelwasserstoff zu in Wasser löslichen, an der Luft sehr veränderlichen Schwefelmetallen; mit den schweren Metalloxyden giebt er meist stark gefärbte Niederschläge. Blei- und Silberlösungen werden durch Schwefelwasserstoff schwarz gefällt und das niederfallende Schwefelsilber oder Schwefelblei ist in verdünnter Säure unlöslich.

Zum Nachweise des Schwefelwasserstoffs dienen ausser dem charakteristischen Geruche noch folgende Proben: 1) Ein Schwefelwasserstoff enthaltendes Gasgemenge färbt einen mit einer Lösung von essigsaurem Blei und etwas Ammoniak befeuchteten Papierstreifen schwarz; 2) einen mit einer Lösung von Nitroprussidnatrium und einem Tropfen verdünnter Natronlauge befeuchteten Papierstreifen purpurroth.

Die geringsten Spuren von Schwefelwasserstoff findet man in Gasgemengen, wenn man dieselben durch eine mit überschüssigem Aetznatron versetzte Bleizuckerlösung streichen lässt.

In Flüssigkeiten weist man den an Alkalien gebundenen Schwefelwasserstoff auf die gleiche Weise nach wie in Gasgemengen, indem man jene Lösungen selbst statt der getränkten Papierstreifen in die Flüssigkeiten bringt.

Freier Schwefelwasserstoff färbt Nitroprussidnatriumlösung nicht, aber sofort nach Zusatz von Alkali.

Chlorwasserstoff HCl.

14. Chlor findet sich gebunden an Kalium, Natrium in fast allen Theilen des thierischen und menschlichen Körpers; nur im Magensafte ist bei Menschen und Säugethieren freie Salzsäure oder an organische Stoffe gebundene nachgewiesen. Besonders reichlich sind Chlormetalle, abgesehen vom Magensafte, im Blutserum, in Transsudaten und im Harne enthalten.

Der Chlorwasserstoff ist ein farbloses, mit Wasserdampf oder mit Ammoniakgas weisse Nebel bildendes Gas. Eine mehr oder weniger gesättigte Lösung dieses Gases in Wasser ist die bekannte Salzsäure. Durch stark oxydirende Substanzen, z. B. durch Manganhyperoxyd, wird der Chlorwasserstoff in Chlor und Wasser umgewandelt. Die Verbindungen mit Alkalien sind leicht löslich in Wasser, krystallisiren im regulären

Systeme, meist als Würfel, in unreinen Lösungen auch in Octaëder-, Pyramidenwürfel- und Tetraëderform. Chlorkalium sowie Chlornatrium schmelzen in der Weissglühhitze und verflüchtigen sich dann, das Chlorammonium sublimirt bereits unter der Rothglühhitze, ist aber bei 100° nicht bemerkbar flüchtig. Chlorkalium und Chlornatrium sind sehr schwer löslich in absolutem Alkohol, leichter in Weingeist, unlöslich in Aether. Chlorammonium ist leichter löslich in Alkohol, auch etwas löslich in Aether. Durch freie Schwefelsäure werden diese Salze in freien Chlorwasserstoff und schwefelsaure Salze umgewandelt, durch Abdampfen und Erhitzen mit viel Salpetersäure in salpetersaure Salze.

Die übrigen Verbindungen mit Basen sind fast alle leicht löslich in Wasser; Chlorblei ist schwer, Chlorsilber und Quecksilberchlorür gar nicht löslich in Wasser. Eine saure oder neutrale wässerige Lösung, welche Chlorwasserstoff enthält, wird durch salpetersaures Silberoxyd gefällt; der weisse, besonders beim Erwärmen sich käsig absetzende Niederschlag, Chlorsilber, ist unlöslich in Salpetersäure, färbt sich im Lichte grauviolett, ist leicht löslich in Ammoniak.

Chlorcalcium und Chlormagnesium sind sehr hygroskopisch, leicht löslich in Wasser oder Alkohol, nicht in Aether; beim heftigen Erhitzen verliert das letztere Chlorwasserstoff und die wässerige Lösung des Rückstandes reagirt alkalisch.

Der Nachweis der Chlorwasserstoffsäure beruht auf der Unveränderlichkeit ihrer Verbindungen mit Kali oder Natron in der Rothglühhitze und dem angegebenen Verhalten der Lösungen gegen salpetersaures Silberoxyd und Salpetersäure, Schwärzung des Niederschlags durch das Licht, Löslichkeit desselben in Aetzammoniak.

Fluorwasserstoff HFl.

15. Fluor findet sich in meist zweifelhaften Spuren im Blute, der Milch, im Harne; gut nachweisbar in den Knochen und Zahnsubstanzen. Man nimmt an, dass es hier stets an Calcium gebunden sei.

Um Flüssigkeiten oder Gewebe auf Fluor zu prüfen, trocknet man sie, verascht den Rückstand, extrahirt die Asche, wenn sie viel lösliche Salze enthält, mit Wasser, ohne jedoch viel auszuwaschen. Den Rückstand bringt man dann in einen Platintiegel, giesst einen Ueberschuss concentrirter Schwefelsäure darauf und bedeckt den Tiegel sofort mit einem in folgender Weise vorbereiteten Uhrglase. Man überzieht ein solches Uhrglas an der convexen Seite mit geschmolzenem Wachs in dünner Schicht, und gravirt in diesen Ueberzug mittelst eines spitzen Hölzchens einen Buchstaben in der Weise, dass in dieser Gravirung die

spiegelnde Glasfläche entblösst ist. Man bedeckt mit diesem Glase, die convexe Seite nach unten, den Tiegel, doch darf es die Flüssigkeit im Tiegel nicht berühren, bringt oben in seine Höhlung einige Tropfen Wasser und stellt nun den Tiegel auf einen auf etwa 40° erwärmten Stein. Indem man zuweilen die Masse im Tiegel mit einem Platindrahte umrührt, lässt man 24 Stunden stehen, entfernt dann durch Schmelzen des Wachses und Waschen mit Steinöl den Wachsüberzug, trocknet das Glas und beobachtet, ob der in den Wachsüberzug gravirte Buchstabe auf der Glasfläche aufgeätzt erscheint, und wenn er nicht sichtbar ist, ob er beim Anhauchen des Glases zum Vorschein kommt. Fluormetalle werden durch concentrirte Schwefelsäure unter Freiwerden von Fluorwasserstoff zerlegt, der gasförmige Fluorwasserstoff greift die Glasfläche an, indem er Fluorsilicium, Fluormetall und Wasser bildet; auf diesen Processen beruht die Erkennung der Fluorverbindungen.

Schwefelsäure SH_2O_4.

16. Die Schwefelsäure, in sehr geringer Menge im Blute und den Gewebsflüssigkeiten, mit Ausnahme der Milch auch in allen Sekreten enthalten, findet sich nur im Harne etwas reichlicher. Sie ist im Trinkwasser und fast allen Nahrungsmitteln enthalten nnd bildet sich ausserdem im Thierkörper als Oxydationsprodukt der Albuminstoffe.

Die reine Schwefelsäure stellt eine erst weit über 100° flüchtige, mit Wasser, Alkohol oder Aether in jedem Verhältnisse mischbare, farblose Flüssigkeit dar. Sie ist bei gewöhnlicher Temperatur die stärkste Säure und treibt alle leichter flüchtigen Säuren aus ihren Verbindungen beim Erwärmen aus.

Die neutralen schwefelsauren Salze sind in Alkohol und Aether unlöslich; beim Glühen mit Kohle werden sie zu Schwefelmetallen reducirt; beim Glühen mit Soda und Kohle geben sie Schwefelnatrium, welches in Wasser gelöst metallisches Silber schwarz färbt (Schwefelsilber) und beim Zusatz von Salzsäure Schwefelwasserstoff entwickelt.

Die Lösungen schwefelsaurer Salze werden gefällt:

1) Durch Chlorcalcium in concentrirter Lösung. Der krystallinische Niederschlag, schwefelsaurer Kalk, bildet sich, wenn die Lösung nicht sehr concentrirt ist, allmälig, ist in viel Wasser löslich, leichter in Salzlösungen, unlöslich in Weingeist.

2) Durch Chlorbarium oder salpetersauren Baryt. Der sehr feinkörnige, leicht durch's Filter gehende Niederschlag, schwefelsaurer Baryt, ist unlöslich in Wasser, kaum löslich in Säuren. In sehr

verdünnten Lösungen entsteht er erst nach einigen Secunden. Durch Erwärmen und Zusatz von Chlorammonium wird er besser filtrirbar[1])

3) Durch essigsaures Bleioxyd. Der weisse feinkörnige Niederschlag, schwefelsaures Bleioxyd, ist sehr schwer löslich in Wasser oder verdünnten Säuren.

Man benutzt zum Nachweis der Schwefelsäure vor Allem das Verhalten gegen Barytsalze, da dies keine Verwechselung zulässt.

Unterschweflige Säure $S_2H_2O_3$.

Von Schmiedeberg[2]) und Meissner[3]) als fast constanter Bestandtheil des Katzenharns und sehr häufiger Bestandtheil des Hundeharns nachgewiesen. Ihr Auftreten in diesen Harnen steht wahrscheinlich in Beziehung zum Cystin, welches im Hundeharne nicht selten ist.

Die unterschweflige Säure ist im freien Zustande nicht bekannt, in Verbindung mit Natrium erhält man sie am Einfachsten durch Kochen einer Lösung von schwefligsaurem Natron mit gepulvertem Schwefel. Ihre Alkali- und alkalischen Erdsalze sind ebenso wie das Magnesium und Zinksalz in Wasser löslich, am Wenigsten das Barytsalz, es entsteht daher ein Niederschlag von unterschwefligsaurem Baryt, wenn man eine nicht allzuverdünnte Lösung des Alkalisalzes mit Chlorbarium versetzt. Das Silbersalz ist unlöslich in Wasser, aber leicht löslich in überschüssigem unterschwefligsauren Alkali. Das unterschwefligsaure Silber schwärzt sich bald durch Bildung von Schwefelsilber. Das Kalk- sowie das Strontiansalz zersetzen sich beim Kochen der Lösung unter Abscheidung von Schwefel. Versetzt man die Lösung eines unterschwefligsauren Salzes mit Salzsäure, so trübt sich die Flüssigkeit bald durch Abscheidung von amorphem Schwefel, in der Lösung ist dann schweflige Säure.

Schmiedeberg stellte unterschwefligsauren Baryt aus Hunde- oder Katzenharn dar, indem er zunächst den Harn mit Kalkmilch und salpetersaurem Kalk fällte, dann durch Kohlensäure im Filtrate den Kalk entfernte, mit Essigsäure oder Salpetersäure neutralisirte und mit Bleiessig fällte. Den mit Wasser ausgewaschenen Bleiniederschlag zerlegte er mit kohlensaurem Ammoniak, entfärbte mit Thierkohle, erwärmte mit Aetzbaryt, so lange Ammoniak ausgetrieben wurde, fällte den überschüssigen Baryt mit Kohlensäure und dampfte das Filtrat zur Krystallisation ein.

Meissner behandelte den Harn sogleich mit Barytwasser im Ueberschusse, filtrirte, dampfte ein, fällte mit Weingeist. Der dicke weisse Niederschlag löste sich grösstentheils in kochendem Wasser und beim Abdampfen und nachherigen Erkalten der Lösung schied sich der unterschwefligsaure Baryt in schönen farblosen Krystallen ab.

Gegen diese Darstellungsmethode ist nur einzuwenden, dass Cystin, welches jedenfalls oft in diesen Harnen vorkommt, bei dem längeren Erwärmen mit Barytwasser Schwefelbarium und durch Einwirkung der Luft unterschwefligsauren Baryt liefern kann.

---

[1]) Stark mit Salzsäure oder Salpetersäure versetzte Lösungen geben mit Chlorbarium einen weissen, krystallinischen, in Wasser leicht löslichen Niederschlag.

[2]) Schmiedeberg, Arch. d. Heilkunde 1867. S. 422.

[3]) Meissner, Zeitsch. f. rat. Med. 1868. Bd. 31. S. 322 Anm.

Den einfachsten Nachweis der unterschwefligen Säure im Harne erhält man durch Zusatz von starker Salzsäure, der Harn wird bei ihrer Anwesenheit bald milchigtrübe und setzt im Verlaufe mehrerer Tage Schwefel mit anderen Substanzen (Kynurensäure etc.) ab. Der Schwefel kann dann mit frisch rectificirtem Schwefelkohlenstoff gelöst und durch Verdunsten der Lösung rein erhalten werden.

Phosphorsäure PH_3O_4.

17. Nächst dem Calcium ist die Phosphorsäure im Körper der Wirbelthiere am Reichlichsten von allen anorganischen Substanzen enthalten und zwar besonders in den Knochen und Zähnen, hier nur an Calcium und Magnesium gebunden; sie findet sich mit diesen Metallen und mit Alkalimetallen verbunden in geringer Menge in allen thierischen Flüssigkeiten, besonders auch im Harne, ist ein gewöhnlicher Bestandtheil der Harnsteine und anderer Concremente und bildet sich bei der Zerlegung des Nucleins, Lecithins und der Glycerinphosphorsäure.

Sie ist eine farblose Säure, die bei gew. Temperatur leicht aus ihren neutralen Salzen einen Theil des Metalls an andere Säuren abtritt und saure Salze bildet, in der Hitze dagegen die meisten Säuren aus ihren Salzverbindungen austreibt. Beim Erhitzen geht sie unter Wasserverlust in Pyro- und endlich in Metaphosphorsäure über, welche durch Glühen mit kohlensaurem Natron wieder in gewöhnliche Phosphorsäure umgesetzt werden. Beim lebhaften Erhitzen der freien Säure in offener Platinschale verdampft sie, ihre neutralen Alkalisalze werden beim Erhitzen mit Kohle nicht zerlegt, die Verbindungen mit schweren Metallen dagegen werden durch Glühen mit organischen Stoffen zersetzt.

Die Phosphorsäure ist dreibasisch, giebt also mit Metallen drei Reihen von Verbindungen, ein neutrales und zwei saure Salze mit jedem Alkali und viele Doppelsalze. Die Verbindungen mit Alkalien sind löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol; die neutralen Verbindungen mit alkalischen Erden sind alle unlöslich in Wasser, etwas löslich in kohlensäurehaltigem Wasser, unlöslich in Ammoniak, leicht löslich in Mineralsäuren, auch löslich in Essigsäure.

Die Verbindungen mit 1 Aequivalent Alkali röthen blaues Lackmus, lassen Lackmoid blau, Phenolphtalein oder Curcuma farblos resp. gelb. Die Verbindungen von 1 Aequiv. Phosphorsäure mit 2 Aequiv. Alkali lassen Curcuma und Phenolphtalein unverändert, färben aber rothes Lackmus blau. Die Verbindungen mit 3 Aequiv. Alkali färben auch Curcuma braun, Phenolphtalein roth. Freie Phosphorsäure färbt auch Lackmoid roth.

Die nur zwei Atome feuerbeständige Basis enthaltenen Salze werden beim Glühen in pyrophosphorsaure Salze umgewandelt.

Wässerige Lösungen, welche Phosphorsäure enthalten, werden gefällt:

1) Durch Chlorbarium oder Chlorcalcium und Ammoniak; der weisse, flockige Niederschlag ist unlöslich in Ammoniak, löslich in Essigsäure und in Mineralsäuren.

2) Durch salpetersaures Silber in Lösungen neutraler phosphorsaurer Salze. Der gelbe Niederschlag ist in Säuren oder Ammoniak leicht löslich.

3) Durch ammoniakalische Magnesialösung (§ 209 Anmkg.); in nicht zu verdünnten Lösungen entsteht der weisse Niederschlag als feinkörniges Pulver sofort, in sehr verdünnten allmälig sich als Krystalle an den Glaswandungen abscheidend. Der Niederschlag, phosphorsaure Magnesia-Ammoniak, ist leicht löslich in Säuren, unlöslich in Ammoniak.

4) Durch wenig Eisenchlorid in nur Essigsäure als freie Säure enthaltender Lösung als flockiger gelblichweisser Niederschlag, phosphorsaures Eisenoxyd. (Eigenschaften des Niederschlags siehe § 8 B. 5. Fällung.)

5) Durch Lösung von molybdänsaurem Ammoniak in Salpetersäure. Der gelbe Niederschlag entsteht bei gewöhnlicher Temperatur langsam, beim Erwärmen schneller und überhaupt nur dann, wenn die Lösung weniger Phosphorsäure als zu ihrer Ausfällung erforderliches molybdänsaures Ammoniak enthält und keine Weinsäure zugegen ist; er ist unlöslich allein in der Lösung des Fällungsmittels selbst. Gegenwart von Salzsäure beeinträchtigt diese Fällung sehr.

Zum Nachweis der Phosphorsäure in Concrementen oder Aschen bedient man sich entweder der Fällung 5 oben, oder man fällt sie, wenn sie an Alkali gebunden ist, durch Magnesialösung. Die Fällung 4 dient besonders zur Trennung der Phosphorsäure von Kalk und Magnesia, die übrigen Fällungen, die oben angeführt sind, benutzt man dann zur Bestätigung oder Abscheidung der Phosphorsäure aus Lösungen.

Pyrophosphorsäure $P_2H_4O_7$ bildet sich aus der gewöhnlichen Phosphorsäure, wenn entweder das Hydrat derselben oder ihre Salze, die nur zwei Atome feuerbeständiger Basen enthalten, bis zum Entweichen des einen Atoms flüchtiger Basis oder basischen Wassers erhitzt werden. Sie bildet sich z. B. bei Verkohlung und Veraschung des Gehirns und anderer lecithinreicher Substanzen.

Die pyrophosphorsauren Alkalien sind in Wasser löslich, die Salze der alkalischen Erden nur in Lösungen anderer Salze. Die Lösungen pyrophosphorsaurer Alkalien geben:

1) mit salpetersaurem Silberoxyd einen weissen, in Salpetersäure sowie in Ammoniak löslichen Niederschlag;

2) mit schwefelsaurer Magnesia einen weissen, flockigen Niederschlag, der sowohl in überschüssiger schwefelsaurer Magnesia als in überschüsssigem phosphorsauren Alkali sich löst. Durch Ammoniak wird diese Lösung nicht gefällt;

3) mit Luteokobaltchlorid (Kobaltihexaminchlorid) bei mässiger Verdünnung sogleich, bei starker Verdünnung erst beim Umschütteln einen blassröthlichgelben krystallinischen Niederschlag, während die Lösungen der Alkalisalze der gewöhnlichen Phosphorsäure und der Metaphosphorsäure erst nach einigen Stunden Niederschläge geben, die auch durch ihr Ansehen von dem der Phosphorsäure leicht zu unterscheiden sind.

Durch Kochen mit Säuren oder Glühen mit Alkalien oder alkalischen Erden geht die Pyrophosphorsäure in gewöhnliche Phosphorsäure über.

Kieselsäure SiO_2.

18. Nur im Harne besonders der Pflanzenfresser ist bis jetzt lösliche Kieselsäure mit Sicherheit nachgewiesen, im menschlichen Harne finden sich nur ganz geringe Spuren davon. Bei den Vögeln ist unlösliche Kieselsäure reichlich in den Federn, bei Säugethieren in geringer Menge in den Haaren nachgewiesen.

Die wasserfreie Kieselsäure stellt ein feuerbeständiges, weisses, in gewöhnlichem Feuer nicht schmelzbares Pulver dar, das in Wasser oder Säuren nach dem Trocknen in der Hitze unlöslich ist. Wird die lösliche Säure aus ihren alkalischen Verbindungen durch Säuren abgeschieden, so bleibt sie zunächst gelöst, bildet beim Concentriren der sauren Lösung eine Gallerte mit dem noch rückständigen Wasser und bleibt beim Eintrocknen und Erhitzen des Rückstandes als weisse pulverige, in Wasser und in Säuren unlösliche, in kochender Alkalilauge lösliche Masse zurück. Fluorwasserstoff löst die Kieselsäure zu Fluorsiliciumgas, welches sich mit Wasser in Kieselfluorwasserstoff und gallertige Kieselsäure zerlegt.

Zum Nachweis der Kieselsäure in Aschen (die in Platingefässen angefertigt sein müssen) fügt man zu denselben verdünnte Salzsäure in genügendem Ueberschusse, verdunset zur Trockne, erhitzt den Rückstand einige Minuten auf dem Sandbade über 100°, so lange saure Dämpfe entweichen, lässt erkalten, übergiesst mit verdünnter Salzsäure und erwärmt; ist Kieselsäure vorhanden, so bleibt sie als feines weisses Pulver zurück, welches mit überschüssiger wässeriger Flusssäure in einer Platinschale verdampft, sich ganz verflüchtigt.

Ammoniak NH_3.

19. In Verbindungen mit Säuren findet sich Ammoniak im Magen- und Darm-Inhalte, besonders im Dickdarme oft reichlich, im Harne in geringen wechselnden Mengen normal, bei manchen Krankheiten reichlicher bei Blasen- oder Nierenkrankheiten im Harne oft im freien Zustande sehr reichlich. Bei der Fäulniss des Harns, Blutes, Eiters, brandiger Theile und von Leichentheilen bildet es sich reichlich, ebenso durch Zersetzung von Harnstoff, Leim, Albuminstoffen u. s. w. beim Kochen mit starken Säuren oder Alkalien.

Das freie Ammoniak ist ein farbloses Gas von eigenthümlichem, stechendem Geruche, welches bei gewöhnlicher Temperatur sehr reichlich vom Wasser absorbirt wird und beim Kochen der wässerigen Flüssigkeiten oder Stehen an der Luft nur langsam vollkommen entweicht. Das Ammoniak verbindet sich direct mit Säuren zu Salzen, als Gas giebt es mit dem Dampfe von Säuren, wie Salzsäure, Salpetersäure, Essigsäure, weisse Nebel, indem es sich mit der Säure zu weniger flüchtigem Salz verbindet. Es färbt feuchtes rothes Lackmuspapier blau, Curcumapapier braun, Blauholztinctur violettroth, Cochenilletinctur carminroth. Aus seinen Verbindungen wird es durch Kali- oder Natronlauge oder Kalkmilch in Freiheit gesetzt und kann durch den Geruch des besonders beim Erwärmen sich entwickelnden Gases, durch die Bildung der Nebel mit Salzsäure oder besser Essigsäure (man bringt einen mit Essigsäure befeuchteten Glasstab in die Luft über der mit Kalkmilch versetzten Flüssigkeit), sowie durch die Veränderung der Farbe von feuchtem rothen Lackmus- oder Blauholzpapier nachgewiesen werden.

Die Verbindungen des Ammoniaks mit Säuren gleichen den entsprechenden Verbindungen von Kali und geben auf die gleiche Weise wie diese Niederschläge mit Platinchlorid oder Weinsäure. Das durch Fällung der Ammoniaklösungen mit Platinchlorid erhaltene hellgelbe, feinkrystallinische Ammoniumplatinchlorid ist in Wasser schwer, in Alkohol und Aether fast gar nicht löslich; beim Erhitzen zerlegt es sich unter Verflüchtigung von Salzsäure und Chlorammonium und Hinterlassung von metallischem Platin.

Zur Entdeckung von freiem Ammoniak in Flüssigkeiten ist es zweckmässig, die zu prüfende Flüssigkeit in ein Becherglas zu bringen, ohne dessen Rand damit zu benetzen; man bedeckt das Becherglas mit einer reinen Glasplatte, an deren unterer Seite ein Stück feuchtes rothes Lackmuspapier angelegt ist. Enthält die Flüssigkeit auch nur Spuren von Ammoniak, so wird das Papier nach einiger Zeit blau gefärbt; in gleicher Weise kann man mit Blauholzpapier prüfen. Enthalten die zu untersuchenden Flüssigkeiten stickstoffhaltige organische Stoffe, die leicht zersetzlich sind, so darf man die Flüssigkeiten nicht zu lange vor der Prüfung stehen lassen, da man sonst befürchten muss, dass eine Zerlegung unter Ammoniakentwickelung eintritt.

Flüssigkeiten, die nur Spuren von freiem Ammoniak enthalten, geben mit einigen Tropfen Quecksilberchlorid versetzt weisse Trübung oder Niederschlag von Quecksilberchloridamid.

Auf Ammoniakverbindungen prüft man die Flüssigkeiten auf gleiche Weise, nachdem man einen genügenden Ueberschuss von Kalkmilch hinzugefügt hat, auch bei dieser Probe darf man nur einige

Stunden lang stehen lassen, und darf durchaus nicht erwärmen, wenn stickstoffhaltige organische Körper sich in der Flüssigkeit befinden.

Statt dieser Prüfungsmethoden kann man sich auch des Nessler-schen Reagens[1]) bedienen, indem man durch einen Aspirator Luft in drei aufeinander folgenden, mit einander verbundenen Kugelapparaten zuerst durch Schwefelsäure, dann durch die zu untersuchende Flüssigkeit, dann durch das Nessler'sche Reagens hindurchsaugt; die durch Schwefelsäure von Ammoniak völlig befreite Luft entzieht der zu prüfenden Flüssigkeit allmälig das freie Ammoniak vollständig und bewirkt beim Durchstreichen durch die alkalische Jodquecksilber-Jodkaliumlösung einen braunen Niederschlag oder mindestens eine gelbe Färbung.

Ein gleichfalls höchst empfindliches Reagens ist eine Lösung von Quecksilberchlorid und etwas Aetzkali oder kohlensaurem Kali; vor einem Ueberschusse des Alkali muss man sich in Acht nehmen, da sonst Quecksilberoxyd abgeschieden wird.[2])

Auch Lösung von Phosphormolybdänsäure kann man in gleicher Weise anwenden; ist Ammoniak zugegen, so bildet sich ein feinkörniger gelber Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak.

---

2. Organische Stoffe oder Kohlenstoffverbindungen.

20. Die sogenannten organischen Körper oder Kohlenstoffverbindungen sind beim anhaltenden Erhitzen und Zutritt der atmosphärischen Luft entweder unzersetzt oder unter Zersetzung flüchtig. Die letzteren, d. h. die in der Hitze sich zerlegenden organischen Stoffe geben bei dem Erhitzen fast alle zunächst Kohle, welche dann beim weiteren Glühen mit dem Sauerstoff der Luft zu Kohlensäure verbrennt. Beim Erhitzen mit leicht oxydirenden Körpern, als Kupferoxyd, Salpeter, chlorsaurem Kali, wird der ganze Kohlenstoffgehalt zu Kohlensäure, der ganze Wasserstoffgehalt zu Wasser oxydirt. Erhitzt man dagegen organische Stoffe bei Ausschluss von Sauerstoff oder unzureichender Menge desselben oder der oxydirenden Substanzen, so treten ausser Kohlensäure und Wasser noch andere meist sehr mannigfaltige flüchtige Zersetzungsproducte auf und Kohle bleibt zurück.

Alle hierher gehörigen Körper mit Ausnahme der gasförmigen Kohlensäure und der Schwefelcyanverbindungen enthalten Wasserstoff, alle mit wenigen Ausnahmen (Schwefelcyanverbindungen, Adenin) auch Sauerstoff.

---

[1]) Man löst 2 gr Jodkalium in 50 ccm Wasser und fügt Quecksilberjodid unter Erwärmen so lange hinzu, bis etwas ungelöst bleibt, lässt erkalten, verdünnt mit 20 ccm Wasser und versetzt 2 Th. dieser Lösung mit 3 Th. concentrirter Kalilauge, ein etwa entstehender Niederschlag wird abfiltrirt und die Flüssigkeit gut verschlossen aufbewahrt.

[2]) Bohlig, Ann. Chem. Pharm. Bd. 125. S. 23.

Viele Kohlenstoffverbindungen enthalten ausserdem Stickstoff, welcher beim Erhitzen als Ammoniak oder Ammoniakbase entweicht. Nur wenige der im Folgenden abgehandelten Stoffe enthalten Schwefel und noch weniger Phosphor (und zwar letzteren stets in der Verbindung der Phosphorsäure).

Unterscheidung organischer Stoffe von anorganischen.

21. Die organiscnen Stoffe unterscheiden sich, wie oben angegeben ist, durch ihr Verhalten in der Hitze von den meisten anorganischen Körpern. Zu ihrer Erkennung erhitzt man daher ein wenig der zu prüfenden Substanz auf Platinblech zuerst sehr vorsichtig, allmälig bis zum Glühen. Die meisten organischen Stoffe, die hierher gehören, werden bei dieser Erhitzung unter Hinterlassung von Kohle zerlegt, auch diese verbrennt beim weiteren Glühen und man erkennt dann, ob ausser der organischen Substanz sich noch schmelzbare oder unschmelzbare anorganische Stoffe in der Probe befanden. Sind die Stoffe ohne Hinterlassung von Kohle flüchtig, so können sie aus Ammoniaksalzen, organischen flüchtigen Säuren oder Oxalsäure bestehen.

Die § 19 angegebenen Reactionen des Ammoniak machen es leicht, die Salze desselben von flüchtigen organischen Körpern zu unterscheiden, auf flüchtige organische Säuren und Oxalsäure prüft man nach den bei diesen Körpern angegebenen Vorschriften.

Zur weiteren Specialisirung ist es erforderlich, einen organischen Stoff, über dessen Zusammensetzung man keine hinreichende Sicherheit besitzt, zu untersuchen, ob er Stickstoff, Schwefel, Phosphor enthält.

Untersuchung organischer Körper auf Stickstoffgehalt.

22. Körper, welche viel Stickstoff enthalten, entwickeln beim Erhitzen den Geruch nach verbranntem Horn oder Leim und die sich entwickelnden Gase geben die Reaction des freien Ammoniaks. Zur sicheren Prüfung schlägt man folgende Wege ein:

1) Man vermischt die zu untersuchende Substanz mit vorher geglühtem Natronkalk im Ueberschusse und erhitzt dann das Gemenge im Glaskölbchen. Ist die Substanz stickstoffhaltig, so entweicht Ammoniak gasförmig und wird an seinem Geruche, Verhalten gegen feuchtes, rothes Lackmuspapier, gegen Essigsäure etc. (vergl. § 19) erkannt.

2) Sehr scharfe Erkennung des Stickstoffgehaltes in organischen Körpern gestattet Lasseigne's Methode. Man bringt die trockne Substanz in ein gut getrocknetes Probirröhrchen, wirft ein Stückchen metallisches Natrium dazu und erhitzt nun allmälig bis zum Glühen. Beim Glühen

des Natrium mit Kohlenstoff und Stickstoff enthaltenden Substanzen bildet sich Cyannatrium. Lässt man jetzt erkalten, fügt vorsichtig aus der Spritzflasche Wasser hinzu, schüttelt gut um, filtrirt und fügt zum klaren Filtrate etwas Lösung von Eisenvitriol, so bildet sich Ferrocyannatrium, und macht man dann die Flüssigkeit mit Salzsäure sauer, so bildet sich blaue Färbung oder blauer Niederschlag (Berliner Blau), wenn die untersuchte Substanz stickstoffhaltig war.

Untersuchung der organischen Stoffe auf Schwefelgehalt.

23. Einige schwefelhaltige organische Substanzen lassen ihren Schwefel beim Kochen mit concentrirter Kalilauge an das Alkalimetall treten, andere geben bei dieser Behandlung nur einen Theil ihres Schwefelgehaltes ab, noch andere bilden hierbei gar kein Schwefelalkalimetall.

Zur Ausführung dieser Untersuchung trägt man die zu prüfende Substanz in überschüssige Kalilauge in einem Porzellantiegel ein, erhitzt zum Kochen, lässt die Flüssigkeit kochend sich sehr stark concentriren, dann erkalten, vermischt dann mit etwas Wasser und untersucht die so erhaltene Flüssigkeit nach § 13 auf Schwefelwasserstoff.

In allen Fällen lässt sich der Schwefelgehalt organischer Substanzen, die frei von Schwefelsäure und nicht flüchtig sind, auf folgendem Wege ermitteln.

Man mischt die Substanz mit dem ungefähr 12fachen Gewicht trocknen kohlensauren Natron und etwa halb so viel salpetersaurem Natron in einer Reibschale; erhitzt dann in einem Platin- oder Silbertiegel Aetzkali gemischt mit etwas salpetersaurem Natron zum Schmelzen, trägt allmälig das obige Gemenge in die schmelzende Masse ein und erhitzt dann noch so lange, bis das Ganze eine helle Färbung angenommen hat und keine Kohle mehr zu bemerken ist. Man lässt nun erkalten, bringt die Masse mit Wasser, zuletzt mit etwas Salzsäure in ein Becherglas, übersättigt nach und nach mit Salzsäure (dampft dann, wenn man im Porzellantiegel geschmolzen hatte, zur Trockne in einer Porzellanschale ab, löst den festen Rückstand in Wasser und ein wenig Salzsäure, filtrirt) und fügt zu der Flüssigkeit einige Tropfen Chlorbariumlösung. Entsteht eine Trübung oder ein feiner in Wasser unlöslicher Niederschlag, so war die untersuchte Substanz schwefelhaltig*).

Es ist selbstverständlich, dass das zu dieser Untersuchung benutzte Alkali schwefelsäurefrei sein muss.

Zum Nachweis des Schwefelgehaltes in organischen Stoffen können

*) Vergl. Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9. S. 288. Methoden zur quantitativen Bestimmung des Schwefelgehaltes.

ausser der angegebenen noch manche andere Methoden benutzt werden, die sämmtlich zugleich zur quantitativen Bestimmung dienen.

Die Verbrennung der fraglichen Substanz in einem Schiffchen im 2 Fuss langen Glasrohre nach Geuther[1]) zwischen zwei Lagen einer Mischung von 10 Thl. trocknen kohlensauren Natron und 1 Thl. Salpeter zuerst im Luft-, dann im Sauerstoffstrome ist leicht ausführbar und genau. Ausserdem sind besonders zu empfehlen die Methoden von Carius[2]), die auch Külz[3]) besonders empfiehlt, und von Otto[4]), doch würde es hier zu weit führen, dieselben zu beschreiben.

Schoenn[5]) empfiehlt zum Nachweis von Schwefel in organischen Verbindungen eine Probe der gepulverten Substanz in ein dünnwandiges unten geschlossenes Glasröhrchen zu bringen, ein kleines Stück Kalium hinzuzufügen, so dass dasselbe von der organischen Substanz umhüllt wird, dann zum Glühen zu erhitzen. Nach dem Erkalten wird die Masse entweder in angesäuertes Wasser gebracht, wobei sich Schwefelwasserstoff entwickelt, oder in eine Nitroprussidnatriumlösung, die durch das Schwefelmetall violett gefärbt wird.

Untersuchung auf Phosphorgehalt in organischen Stoffen.

24. In sämmtlichen phosphorhaltigen Stoffen, die hier in Betracht kommen, kann der Phosphor nach folgender Methode aufgesucht und auch bestimmt werden.

Die Substanz wird mit einer Mischung von trocknem kohlensauren und salpetersauren Natron gemischt in einer Porzellan- oder besser Platinschale bis zum Verschwinden der Kohle vorsichtig geglüht, die Masse nach dem Erkalten in Wasser gelöst, im bedeckten Becherglase mit Salpetersäure stark übersättigt, dann die Lösung etwas eingedampft mit salpetersaurer Lösung von molybdänsaurem Ammoniak bei etwa 40° gefällt, nach 12 Stunden der Niederschlag abfiltrirt, in verdünntem Ammoniak gelöst und diese Lösung mit einer klaren Mischung von schwefelsaurer Magnesia, Chlorammonium und überschüssigem Ammoniak (über die Darstellung derselben siehe § 209 Anmkg.) gefällt. Diese Methode ist zur quantitativen Bestimmung des Phosphorgehaltes sehr geeignet; es sind hierfür hinsichtlich der Behandlung der Niederschläge die Vorschriften, welche für die Bestimmung der Phosphorsäure in Aschen gegeben sind, in § 209 nachzusehen.

---

[1]) Zeitschr. f. Chem. 1865. S. 347.
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 3. S. 697.
[3]) Arch. f. Anat. und Physiol. 1872. S. 98.
[4]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 145. S. 25.
[5]) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 8. S. 52.

Schoenn*) empfiehlt zum Nachweis von Phosphor die gepulverte Substanz mit ihrem halben Volumen Magnesiumpulver zu mengen und zu glühen. Der sich verflüchtigende Phosphor leuchtet, und bringt man die geglühte Masse in Wasser, so tritt der zwiebelähnliche Geruch nach Phosphorwasserstoff auf. Eine Methode zum Nachweis von Stickstoff, Schwefel, Chlor, Brom, Jod in organischen Stoffen durch Glühen mit Kalium oder Natrium ist von Spica (Gaz. chim. italian. IX. 1879. S. 574) beschrieben.

Es würde den Umfang dieses Handbuchs bedeutend vermehren, wenn eine detaillirte Beschreibung der Methoden zur quantitativen Bestimmung des C, H N, S und P-Gehaltes der organischen Stoffe durch die sog. Elementaranalyse in dasselbe aufgenommen würde: eine kurze Schilderung könnte aber einen Nutzen für die praktischen Untersuchungen nicht gewähren. Die leicht ausführbare und genaue Methode der Stickstoffbestimmung von Kjeldahl siehe unten bei den Harnuntersuchungen § 228. Man findet ausführliche Schilderung der Apparate und Methoden zur Elementaranalyse organischer Stoffe in der Anleitung zur quantitativen chemischen Analyse von Fresenius 6. Aufl. Bd. 2. 1877.

Die organischen Stoffe hinsichtlich ihres Vorkommens, der Zusammensetzung und der chemischen Eigenschaften.

Kohlensäure CO_2.

25. Aus dem Blute und allen anderen Flüssigkeiten des thierischen Körpers wird Kohlensäure durch die Luftpumpe gewonnen; gasförmig enthalten sie exspirirte Luft und Darmgase. An Kalk gebunden findet sie sich in den Knochen und vielen pathologischen Concrementen, ebenso an Kalk oder andere Basen gebunden im Harne häufig (besonders im Harne der Pflanzenfresser). Sie wird endlich bei der Fäulniss organischer Stoffe (besonders im Harne) und ihrer Verbrennung reichlich gebildet.

Das freie Kohlendioxyd ist bei gewöhnlicher Temperatur und einem 40 Atmosphären nicht übersteigenden Drucke ein farbloses Gas von stechendem Geruche und Geschmacke. Es ist nicht weiter oxydirbar, also auch nicht brennbar. Bei 0° und 76 Cm. Druck absorbirt Wasser sein $1\frac{1}{2}$ faches, bei 10 bis 12° etwa sein einfaches Volumen Kohlensäure; das mit Kohlensäure beladene Wasser färbt blaues Lackmuspapier roth, die rothe Färbung verliert sich aber bald beim Liegen des Papiers an der Luft.

Die Kohlensäure ist eine sehr schwache zweibasische Säure. Die neutralen kohlensauren Salze der Alkalien sind löslich in Wasser, ihre Lösungen reagiren stark alkalisch; in Alkohol sind diese Salze unlöslich.

*) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 8. S. 52.

Die neutralen kohlensauren Erden sind in kohlensäurefreiem Wasser fast ganz unlöslich, in viel kohlensäurehaltigem Wasser lösen sie sich dagegen auf.

Die sauren kohlensauren Alkalien sind gut krystallisirbar, zerfallen jedoch leicht beim Erhitzen auf 100°, auch selbst beim Stehen in einer Luft, die weniger als 1 pCt. Kohlensäure bei gewöhnlichem Luftdrucke enthält. Bei dieser Zerlegung bildet sich neutrales Salz unter Entweichen von Kohlensäure und Wasser. Die neutralen kohlensauren Alkalien zerlegen sich nicht bei mässigem Glühen, die Verbindung der Kohlensäure mit Calcium wird dagegen beim Glühen im Luftstrome zersetzt.

Wird zu einer Lösung eines neutralen kohlensauren Alkali allmälig eine ungenügende Menge einer Säure zugefügt, so verbindet sich diese mit der äquivalenten Menge des Alkali und die freigewordene Kohlensäure wandelt eine entsprechende Menge des noch übrigen kohlensauren Salzes in das saure Salz um. Wird dagegen schnell eine starke Säure hinzugefügt, so zerfällt durch die Erhitzung das saure kohlensaure Salz und es entweicht Kohlensäure unter Aufbrausen. Durch überschüssige stärkere Säuren wird aus ihren Verbindungen die Kohlensäure ausgetrieben und entweicht besonders beim Erwärmen schnell aber nur sehr langsam vollständig.

Zum Nachweis der Kohlensäure dient hauptsächlich das Aufbrausen, welches sich einstellt, wenn die festen oder in Wasser gelösten Salze derselben mit einer starken Säure (verdünnter Schwefelsäure) im Ueberschusse versetzt werden, ferner die schwache Röthung von feuchtem Lackmuspapier in der kohlensäurehaltigen Luft, der Geruch und die Fällung von klar filtrirtem Kalk- oder Barytwasser. Der letzteren Probe bedient man sich auch, um die in Flüssigkeiten absorbirt enthaltene oder in Gasgemengen beigemischte Kohlensäure nachzuweisen. Um freie Kohlensäure in Flüssigkeiten nachzuweisen, bringt man dieselben am Besten in einen Kolben mit doppelt durchbohrtem Kork, durch dessen eine Bohrung eine Röhre bis zum Boden reicht. Man saugt nun mittelst eines Aspirators atmosphärische Luft, die in einem Kugelapparate durch Waschen mit Kalilauge von Kohlensäure befreit ist, durch die zu prüfende Flüssigkeit, die Luft geht von dieser mit Kohlensäure, wenn diese vorhanden ist, gemengt durch das in der zweiten Bohrung befindliche Röhrchen in einen zweiten mit klarem Kalk- oder Barytwasser gefüllten Kugelapparat und die Kohlensäure fällt hier an Kalk oder Baryt gebunden als weisser Niederschlag oder Trübung nieder. Erwärmen der zu prüfenden Flüssigkeit im Kolben beschleunigt das Entweichen der Kohlensäure.

Flüchtige fette Säuren der Gruppe $C_nH_{2n}O_2$.

26. Die in menschlichen und thierischen Organismen und ihren Excreten vorkommenden hierher gehörenden Glieder dieser einbasischen Säuregruppe sind:

		Spec. Gewicht	bei Temp.	Siedepunkt	b. Druck mm	Schmelzpunkt
Ameisensäure ...	$C\ H_2\ O_2$	1,2415	0°	100,8°	760	+ 8,6°
Essigsäure	$C_2\ H_4\ O_2$	1,0701	0°	118,1°	„	+ 16,5°
Propionsäure ...	$C_3\ H_6\ O_2$	1,0133	0°	140,9°	„	— 23 bis — 24°
Buttersäure	$C_4\ H_8\ O_2$	0,9781	0°	162,5°	„	— 2 „ — 4,5°
Isobuttersäure ...	$C_4\ H_8\ O_2$	0,9651	0°	154,0—154,2°	„	—
Isopropylessigsäure	$C_5\ H_{10}\ O_2$	0,9467	0°	173,7°	„	—
Capronsäure	$C_6\ H_{12}\ O_2$	0,9446	0°	204,5—205°	„	— 1,5°
Caprylsäure	$C_8\ H_{16}\ O_2$	0,9270	0°	236—237°	„	+ 16,5°
Caprinsäure	$C_{10}\ H_{20}\ O_2$	0,930	37,0°	268—269°	„	+ 31,3 bis + 31,4°
Laurinsäure	$C_{12}\ H_{24}\ O_2$	0,8750	43,6°	225,0°	100	+ 43,6°
Myristinsäure ...	$C_{14}\ H_{28}\ O_2$	0,8622	53,8°	250,5°	„	+ 53,8°
Palmitinsäure ...	$C_{16}\ H_{32}\ O_2$	0,8527	62,0°	268,5°	„	+ 62,0°
Stearinsäure	$C_{18}\ H_{36}\ O_2$	0,8454	69,2°	291,0°	„	+ 69,2°
Arachinsäure ...	$C_{20}\ H_{40}\ O_2$	—	—	—	—	+ 75,0°
Hyänasäure	$C_{25}\ H_{50}\ O_2$	—	—	—	—	+ 77—78°
Cerotinsäure	$C_{27}\ H_{54}\ O_2$	—	—	—	—	+ 78°

Zur Identificirung haben für die Säuren von niedrigerem Moleculargewicht die Siedepunkte hohe Bedeutung, für die von hohem Moleculargewicht die Schmelzpunkte. Wo keine Angaben über spec. Gewicht, Siedepunkt und Schmelzpunkt gemacht sind, fehlen noch zuverlässige Bestimmungen.

Vergleicht man zwei in ihrer Zusammensetzung einander nahe stehende Glieder dieser Säurereihe hinsichtlich ihrer chemischen Eigenschaften, so ist es nur bei einigen bis jetzt möglich, bestimmte Unterschiede beider aufzufinden, die nicht blos graduelle Differenzen wären, während die in ihrer Zusammensetzung weit von einander verschiedenen Glieder dieser Reihe sich ziemlich leicht von einander trennen und in ihren physikalischen und chemischen Eigenschaften sich auch leicht unterscheiden lassen. Die Schwierigkeit des Nachweises dieser Substanzen im Einzelnen wird durch den Umstand noch wesentlich erhöht, dass gerade die in ihrer Zusammensetzung einander nahe stehenden Säuren der obigen Reihe in den Organismen zusammen in denselben Organen, in denselben Flüssigkeiten vorzukommen pflegen. So finden sich in dem menschlichen und thierischen Fett als wesentliche Bestandtheile vielleicht überall Palmitinsäure und Stearinsäure neben einander in verschiedenen Mengenverhältnissen in Verbindung mit Glycerin, während Myristinsäure, Laurostearinsäure, Caprin-, Capryl-, Capron- und Buttersäure sich nicht

constant darin finden und wenn sie überhaupt darin auftreten, nur in relativ geringen Mengen sich zeigen. Andererseits sind im Schweisse des Menschen und verschiedener Thiere die niederen Glieder dieser Säurereihe enthalten, ebenso im Safte der Milz, während hier die obigen Säuren vom höheren Moleculargewichte fehlen. Bei der Fäulniss der Kohlehydrate, Eiweiss- und Leimstoffe bilden sich viele der obigen Säuren neben einander, ohne dass es erwiesen wäre, ob sie alle dabei entstehen können, zweifelhaft ist es besonders für die Säuren von der Laurostearinsäure bis zur Stearinsäure. Nur in den festen Excrementen sind sowie im Dickdarminhalte, theils aus der Nahrung herrührend, theils im Darmcanale gebildet, fast alle obige Säuren enthalten. Wegen der grossen Aehnlichkeit unter einander kann die specielle Schilderung der einzelnen hierher gehörenden Säuren sich sehr kurz fassen.

Ameisensäure.

27. In ziemlich concentrirter Lösung findet sich freie Ameisensäure in den Ameisen; auch in Raupen hat man sie nachgewiesen (Processionsraupe). Im menschlichen Körper soll sie in der Milzflüssigkeit vorhanden sein, auch vom Schweisse, Blute, Harne, ferner Muskeln, Pancreas, Thymus wird ihr Vorkommen angegeben. Sie entsteht bei Zersetzung des Blutfarbstoffes sowie eines im Harne häufig auftretenden, kaum gekannten Körpers durch Säuren. Künstlich dargestellt wird sie am Besten durch Destillation von entwässerter Oxalsäure mit trocknem Glycerin.

Die Ameisensäure unterscheidet sich von allen oben genannten übrigen fetten Säuren durch ihren stechenden Geruch und ihre leichte Zerlegung. Sie zersetzt sich in Berührung mit feinvertheiltem Rhodium zu CO_2 und H_2 unter Freiwerden von Wärme; durch Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure zerfällt sie in Kohlenoxyd und Wasser, durch Erhitzen mit Aetzkali oder besser Baryt bildet sie unter Wasserstoffentwickelung Oxalsäure. Salpetersaures Silberoxyd wird durch Ameisensäure beim Kochen schnell zu metallischem Silber verändert, während Kohlensäure entweicht. Quecksilberoxydsalze, auch Quecksilberchlorid werden zunächst durch Erwärmen mit Ameisensäure in Oxydulsalze unter Kohlensäureentwickelung umgewandelt, beim fortgesetzten Erwärmen (allmälig bei gewöhnlicher Temperatur) tritt Reduction zu metallischem Quecksilber unter erneuter Entwickelung von Kohlensäure ein. Fügt man daher zu einer sauren Lösung von Ameisensäure Silberoxyd oder Quecksilberoxyd und kocht, so wird die Ameisensäure völlig zu Kohlensäure und Wasser zersetzt. Durch Fäulnissfermente, z. B. Kloaken-

schlamm werden ameisensaure Salze zu kohlensauren zersetzt unter Entwickelung von 2 Vol. H_2 auf 1 Vol. CO_2.

Ihre Salze sind alle in Wasser leicht löslich, am Schwersten das Quecksilberoxydulsalz, welches sich jedoch, wie oben angegeben, leicht zerlegt; das Bleisalz ist in 36 Theilen Wasser löslich. Eine neutrale Flüssigkeit, welche Ameisensäure enthält, gibt mit neutralem Eisenchlorid eine dunkelrothe Färbung der Lösung und beim Kochen gelben Niederschlag eines basischen Salzes.

Zu ihrer Entfernung aus Flüssigkeiten benutzt man Quecksilberoxyd, zu ihrem Nachweis das Verhalten gegen salpetersaures Silberoxyd sowie gegen Eisenchlorid.

Essigsäure.

28. Freie Essigsäure findet sich normal in menschlichen Fäcalstoffen, pathologisch nicht selten im Mageninhalte (Erbrochenen) bei Störungen der Magenverdauung, auch ohne vorangegangenen Essiggenuss, durch eine daselbst verlaufende Gährung von Milch, Brod u. s. w. entstanden, besonders häufig bei kleinen Kindern, zusammen mit freier Milchsäure. Nur in geringen Spuren sind essigsaure Salze im Safte verschiedener Organe (Milz, Muskeln), im Blute bei Leukämie, im Schweisse, in der Galle nachgewiesen. Sie bildet sich häufig und reichlich im aufbewahrten diabetischen Harne.

Man stellt die Essigsäure durch Gährung von Wein oder Bier mit Essighefe oder aus den Producten der trocknen Destillation des Holzes dar, die concentrirte wird gewöhnlich durch Destillation von getrocknetem essigsauren Natron mit concentrirter Schwefelsäure erhalten.

Die Essigsäure besitzt einen bekannten, charakteristischen Geruch; sie mischt sich mit Wasser in jedem Verhältnisse, wird durch concentrirte Schwefelsäure beim Erhitzen kaum angegriffen (meist geringe Schwärzung unter Entwickelung von schwefliger Säure). Salpetersaures Silberoxyd giebt mit hinreichend concentrirten Lösungen essigsaurer Salze weissen Niederschlag von essigsaurem Silberoxyd, der in heissem Wasser leichter löslich ist und beim Erkalten der heiss concentrirten Lösung in blättrigen Krystallnadeln, löslich bei 14° in 98 Thln. Wasser, sich ausscheidet; Reduction des Silbers tritt beim Kochen nicht ein. Gegen Eisenchlorid verhalten sich die neutralen Salzlösungen der Essigsäure wie die der Ameisensäure.

Die Propionsäure, auch Metacetonsäure genannt, soll sich im Schweisse, in der Galle und zuweilen auch im Mageninhalte finden. Man stellt sie dar durch Kochen von Propionitril mit Kalilauge oder durch Reduktion von Milchsäure.

Die Propionsäure entsteht leicht bei Gährungen von milchsaurem Kalk neben Essigsäure und Buttersäure. Die reine Propionsäure besitzt einen der Essigsäure ähnlichen Geruch, mischt sich in jedem Verhältnisse mit Wasser, wird aber durch viel Chlorcalcium aus der Lösung als ölige Flüssigkeit abgeschieden. Ihre Salze sind gleichfalls denen der Essigsäure sehr ähnlich, das Natronsalz ist leichter löslich in Wasser als das essigsaure Natron.

Buttersäure.

29. Die normale Buttersäure wurde zuerst in der Butter entdeckt, in welcher sie an Glycerin gebunden ist und beim Ranzigwerden der Butter zum Theil frei wird; sie ist ausserdem im Schweisse, im Dickdarminhalte und den festen Excrementen, zuweilen im Mageninhalte und Harne aufgefunden. Auch im Blute, Safte der Milz, Ovarialcystenflüssigkeit und Muskeln ist sie gefunden. Endlich ist sie in dem braunen Safte, den die Laufkäfer von sich geben, enthalten.

Mann stellt die Buttersäure durch Gährung von milchsaurem Kalk mit altem Käse, Fällung des gebildeten buttersauren Kalkes mit kohlensaurem Natron, Eindampfen der Lösung und Destillation der concentrirten Flüssigkeit mit verdünnter Schwefelsäure dar. Sie entsteht reichlich beim Schmelzen von Eiweiss mit Aetzkali, wenig beim Erhitzen von milchsaurem Kalk mit Natronkalk.

Sie ist im Wasser in jedem Verhältnisse löslich, ebenso in Alkohol oder Aether, besitzt einen ihr eigenthümlichen, unangenehmen, durchdringenden Geruch (nach ranziger Butter), wird durch Chlorcalcium und ebenso durch manche andere Salze aus ihrer wässerigen Lösung ölartig abgeschieden. Die trockne ölige Säure vereinigt sich beim längern Stehen mit Chlorcalcium zu einer festen krystallinischen Masse ebenso wie manche andere ihr homologe Säuren. Das Barytsalz krystallisirt aus heisser wässriger Lösung mit 2, aus kalter Lösung mit 4 Mol. Krystallwasser, löst sich leichter in Wasser als das capronsaure Salz. Das Kalksalz mit 1 Mol. Krystallwasser krystallisirt in zarten Nadeln, seine kalt gesättigte wässrige Lösung scheidet bei 70 bis 100° fast das ganze Salz krystallinisch aus. 1 Theil Salz löst sich in 3,5 Theilen Wasser. Das Silbersalz wird aus concentrirter wässriger Lösung eines Alkalisalzes durch Silbernitrat gefällt.

Isobuttersäure

30. wird aus Isopropylcyanid durch Kochen mit Kalilauge oder durch Oxydation von Isobutylalkohol erhalten und findet sich in den Fäces, sowie in Fäulnissproducten von Eiweisstoffen. Sie mischt sich nicht in

allen Verhältnissen mit Wasser, sondern erfordert davon 3 Theile bei gewöhnlicher Temperatur zur Lösung. Durch Oxydation wird sie leichter angegriffen als die normale Säure und durch Chromsäure zu Aceton, Essigsäure und CO_2 zersetzt. Ihr Calciumsalz löst sich bei 18° in 2,8 Theilen Wasser, in heissem Wasser viel reichlicher (guter Unterschied von der normalen Säure). Das Silbersalz ist leichter löslich in heissem Wasser als das Salz der normalen Säure; es wird aus concentrirter Lösung eines Alkalisalzes durch Silbernitrat erhalten. Isobuttersaures Guanidin liefert beim Erhitzen isobuttersaures Guanamin, welches in Wasser schwer löslich ist und in spitzen Rhomboedern krystallisirt.

Isopropylessigsäure

31. ist gefunden im Thran von Delphinus globiceps, in Fäces von Menschen, bildet sich reichlich bei Fäulniss aus unreinem Leucin an der Luft neben Ammoniak und CO_2. Die aus Gährungsamylalkohol durch Erhitzen mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure gebildete, auch in vielen Pflanzen gefundene Säure ist in 26,6 Theilen Wasser bei 20° löslich, wird durch Salze aus dieser Lösung abgeschieden. Ihr Barytsalz und das 3 Mol. Krystallwasser enthaltende Kalksalz sind leicht löslich in Wasser, gut krystallisirbar. Das Silbersalz ist in Wasser sehr schwer löslich.

Capronsäure.

32. Die normale Capronsäure findet sich in der Butter, im Limburger Käse, in den Fäces, bildet sich oft sehr reichlich bei der Fäulniss besonders aus Milchsäure oder Glycerin. Sie ist in Wasser kaum löslich. Der capronsaure Baryt krystallisirt wasserfrei in radial gestellten feinen Nadeln; 100 Theile Wasser lösen bei 24° 10,2 Theile des Salzes nach Wein, bei 18,5° 8,5 Theile Salz nach Lieben und Rossi. In heissem Wasser viel reichlicher löslich. Das Calciumcapronat krystallisirt mit 1 Mol. Krystallwasser in dünnen glänzenden Krystallblättchen oder langen verzweigten Nadeln, nicht leicht löslich in Wasser und in heissem ungefähr ebenso wie in kaltem Wasser. Das Silbersalz bildet eine käsige Masse, fast unlöslich in kaltem, schwer löslich in heissem Wasser, aus heisser wässriger Lösung in kleinen Nadeln krystallisirend.

Caprylsäure.

In der Butter als Glycerinverbindung enthalten, nach Lerch auch im Menschenfett und im Schweiss. Sie löst sich nur sehr wenig in Wasser. Das Barytsalz krystallisirt wasserfrei, es lösen sich bei 18° nach Wein

0,76 Theile, bei 10⁰ nach Fehling 0,79 Theile, bei 20⁰ 0,62 Theile des Salzes in 100 Theilen Wasser.

Caprinsäure.

In der Butter als Glycerinverbindung, sie bildet feine Nadeln. Das Barytsalz krystallisirt in fettglänzenden Blättchen, in kaltem Wasser kaum, in kochendem Alkohol oder Wasser etwas löslich. Das Calciumsalz ist etwas leichter löslich. Das Silbersalz aus der Lösung von Ammoniumcaprinat gefällt stellt einen weissen, in heissem Wasser sehr wenig, in heissem Alkohol reichlicher löslichen, in kaltem Wasser unlöslichen Niederschlag dar.

Zur Trennung der Buttersäure, Capron-, Capryl- und Caprinsäure von einander empfiehlt Wein[1]) die Barytsalse durch concentrirte Phosphorsäure zu zerlegen, die Oelschicht abzuheben und im CO_2-strome fractionirt zu destilliren, aus dem unter 220⁰ übergehenden Theil Buttersäure und Capronsäure, aus der Fraction 220—260⁰ die Caprylsäure zu gewinnen; der bei 260—280⁰ übergehende Theil giebt die Caprinsäure. Die Capronsäure kann durch Waschen mit Wasser von Buttersäure befreit werden.

Laurostearinsäure, Myristinsäure.

Diese Säuren finden sich in geringen Mengen wie es scheint im Wallrath und in der Butter, vielleicht auch in den übrigen Fetten. Ihre Darstellung und Trennung geschieht nach den unten zu erörternden Methoden. Die Laurostearinsäure siedet bei 100 Mm. Barometerdruck bei 225,5⁰, die Myristinsäure bei dem gleichen Druck gegen 248⁰[2]). Charakteristische Reactionen fehlen gänzlich, ihr Nachweis geschieht nach dem in den folgenden Paragraphen anzugebenden Verfahren.

Palmitinsäure, Stearinsäure.

33. Das im Unterhautbindegewebe, sowie an anderen Orten des menschlichen Körpers und bei Thieren abgelagerte Fett enthält ausser der später zu beschreibenden Oelsäure hauptsächlich Palmitinsäure und Stearinsäure in ihren Glycerinverbindungen, ebenso sind beide reichlich in der Butter und im Wallrath enthalten, in letzterem verbunden mit dem Cetylalkohol, im Lecithin in Verbindung mit Glycerinphosphorsäure

[1]) Wein, Sitzungsber. d. phys. med. Soc. in Erlangen 15. Jan. 1877 und Diss. Erlangen 1876.

[2]) Kraft, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1879. S. 1664 u. 1668.

und Neurin. Auch pathologische Fettbildungen enthalten beide. In Verbindung mit Kalk finden sich beide Säuren in den Fäces und im Leichenfette (Adipocire), wahrscheinlich in Verbindung mit Natron im Blutserum und den Transsudaten, auch im Eiter. Im freien Zustande finden sie sich in zersetztem Eiter, Brandjauche, zerfallenen käsigen Tuberkelmassen.

Ein Gemenge beider Säuren hielt man früher für eine besondere Säure, welche Margarinsäure genannt wurde. Heintz zeigte, dass sich diese Gemenge durch seine unten zu beschreibende Methode stets in jene beiden Säuren zerlegen lassen, diese Methode ist auch die einzige zuverlässige Darstellungsweise jener Säuren. Palmitinsäure wird neben Essigsäure durch Schmelzen von Oelsäure mit Aetzkali gebildet. Eine Margarinsäure $C_{17}H_{34}O_2$ von constantem Schmelzpunkt 59,9° fand Ebert[1]) im Leichenwachs.

Beide obige Säuren sind geruch- und geschmacklose, krystallinische Massen. Der Schmelzpunkt der Palmitinsäure liegt bei 62,0°, der der Stearinsäure bei 69,2°, aber diese Säuren lösen einander auf und die Schmelzpunkte ihrer Mischungen liegen tiefer als 62°. Nach den Bestimmungen von Heintz[2]) zeigen die Gemische folgende Schmelzpunkte:

Ein Gemisch von

Stearinsäure	Palmitinsäure	schmilzt bei	erstarrt bei
90	10	67,2°	62,5°
80	20	65,3°	60,3°
70	30	62,9°	59,3°
60	40	60,3°	56,5°
50	50	56,6°	55,0°
40	60	56,3°	54,5°
30	70	55,1°	54,0°
20	80	57,5°	53,8°
10	90	60,1°	54,5°

Die Mischung gleicher Theile beider Säuren krystallisirt am Schönsten grossblättrig, die reinen Säuren bilden dagegen schuppig krystallinische, perlmutterglänzende Massen, die bei der mikroskopischen Untersuchung als dünne, rhombische, biegsame Blättchen sich ergeben. Beide Säuren sind in Wasser ganz unlöslich, in Alkohol löst sich die Palmitinsäure leichter als die Stearinsäure, in kochendem Alkohol sowie in Aether, Chloroform sind sie leicht löslich; auch Eisessig löst sie reichlich, besonders in der Wärme; durch Wasser werden sie aus der Lösung in Eisessig oder Alkohol abgeschieden. Von ätzenden Alkalilaugen werden

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 8. S. 775.
[2]) Poggendorff, Annal. d. Phys. u. Chem. Bd. 92. S. 588.

sie aufgelöst, und kocht man sie mit wässeriger Lösung kohlensaurer Alkalien und dampft das Gemenge zur Trockne ab, so treiben sie die Kohlensäure aus und bilden Salze. Diese Alkalisalze sind in Wasser sehr leicht löslich, werden aber durch Zusatz von viel Wasser in Alkali und saures palmitinsaures oder saures stearinsaures Alkali zerlegt, welche sauren Salze seidenartig glänzende, krystallinische, sich schwer absetzende Niederschläge bilden. Das palmitinsaure und stearinsaure Kali und Natron sind wesentliche Bestandtheile der gewöhnlichen Seifen. In heissem Alkohol sind diese Alkalisalze ziemlich leicht löslich, scheiden sich aber aus der concentrirten Lösung beim Erkalten theilweise gallertartig aus (die Gallert wandelt sich allmälig in Krystalle um). Die Verbindungen der Palmitinsäure und der Stearinsäure mit alkalischen Erden oder mit den Oxyden der schweren Metalle sind in Wasser völlig unlöslich. Fügt man daher zu einer heissen alkoholischen Lösung jener Säuren oder ihrer Alkalisalze etwas essigsauren Baryt, so erhält man einen Niederschlag von palmitinsaurem und stearinsaurem Baryt, ebenso verhält es sich, wenn man essigsaure Magnesia statt des Barytsalzes wählt.

Fügt man nun zu der siedend heissen Lösung eines Gemisches von palmitinsaurem und stearinsaurem Natron in Alkohol in kleinen Portionen eine heisse gesättigte Lösung von essigsaurem Baryt, so fällt zuerst nur stearinsaurer Baryt aus, später ein Gemenge von stearinsaurem und palmitinsaurem Salz und zuletzt reiner palmitinsaurer Baryt.

Nach dieser Methode der partiellen Fällung, wie sie Heintz zuerst angewendet hat, ist man im Stande, successive Stearinsäure, Palmitinsäure, Myristinsäure, Laurostearinsäure völlig rein in ihren Baryt- oder Magnesiasalzen darzustellen. Man erhält aus den Salzen die Säuren, indem man die ersteren in Wasser zertheilt, mit Salzsäure und dann mit Aether übergiesst, gut schüttelt, den Aether abgiesst, mit etwas Wasser wäscht und dann abdestillirt, es bleibt dann die reine Säure zurück. Im Uebrigen bezüglich des Nachweises siehe die folgenden Paragraphen.

Arachinsäure $C_{20}H_{40}O_2$ ist von Heintz in der Butter gefunden und durch fractionirte Fällung isolirt. Sie wird reichlich aus dem Erdnussöl erhalten.

Hyänasäure ist eine fette Säure von Carius[1]) genannt, die von ihm in der Fettmasse an den Analdrüsen einer Hyäne neben Palmitinsäure und Oxalsäure an Glycerin gebunden und dann von Schulze[2]) in Verbindung mit Cholesterinen im Fett der Schafwolle gefunden wurde. Sie ist schwer löslich in kaltem, leicht

---

1) Ann. Chem. Pharm. Bd. 129. S. 168.

2) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 7. S. 162 u. Bd. 9 S. 321.
Journ. f. Landwirthschaft 1879. S. 125.

löslich in heissem Alkohol, scheidet sich beim Erkalten der heissen alkoholischen Lösung in Körnern mikroskopischer Nadeln aus. In den meisten Eigenschaften stimmt sie mit der Stearinsäure überein. Von den anderen Säuren wurde sie durch fractionirte Fällung getrennt.

Untersuchung von Flüssigkeiten auf einen Gehalt an Ameisensäure, Essigsäure u. s. w. bis zur Caprinsäure; Trennung dieser Säuren von einander.

34. Die flüchtigen fetten Säuren von niedrigerem Moleculargewicht bis zur Caprinsäure lassen sich durch Destillation von den nicht flüchtigen Körpern trennen. Harn oder Schweiss kann man ohne Weiteres mit verdünnter Schwefelsäure versetzt behufs dieser Trennung der Destillation unterwerfen; allerdings können dabei im Harne durch Einwirkung der Säure auf gewisse Stoffe fette flüchtige Säuren gebildet werden*). Seröse Flüssigkeiten, die frei von Blutfarbstoff sind, werden am Einfachsten mit dem mindestens dreifachen Volumen Weingeist kalt gefällt, filtrirt, das Filtrat nöthigenfalls nach Zusatz von etwas kohlensaurem Natron durch Abdestilliren des Alkohol concentrirt, dann auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen verdunstet und der Rückstand nach Zusatz von verdünnter Schwefelsäure destillirt. Blut, sowie bluthaltige Organe können erst dann auf flüchtige Säuren geprüft werden, nachdem nicht allein die Eiweissstoffe gefällt, sondern auch der Blutfarbstoff in solcher Weise abgeschieden ist, dass er nicht zersetzt war. Es würde sich dies auf zwei Wegen erreichen lassen, entweder 1) kann man nach Mischung des Blutes mit verdünnter Lösung von schwefelsaurem Natron resp. nach Extraction der zerkleinerten Organe mit einer solchen Lösung die Blutkörperchen sich senken lassen, die abgegossene blutfarbstofffreie oder doch wenigstens blutfarbstoffarme Lösung eindampfen und nach Abfiltriren der Albuminstoffe mit verdünnter Schwefelsäure destilliren, oder 2) das Blut oder die zerkleinerten Organe mit möglichst kaltem Alkohol schnell gut zusammenrühren unter Einsetzen in Kältemischung, kalt filtriren und das Filtrat, wie es oben für seröse Flüssigkeiten angegeben ist, weiter behandeln. Fäces extrahirt man zunächst mit Alkohol, filtrirt, neutralisirt mit kohlensaurem Natron, dampft zur Trockne ab und destillirt den Rückstand in Wasser gelöst mit verdünnter Schwefelsäure.

Man setzt in allen Fällen die Destillation so lange fort, bis die Masse in der Retorte sehr concentrirt geworden ist (riecht der Rückstand noch stark nach fetten Säuren, so fügt man Wasser hinzu und destillirt wieder ab).

Die bei diesen Destillationen erhaltenen Flüssigkeiten können die

*) Buliginsky, Med. chem. Mittheil. von Hoppe-Seyler, Heft 2. S. 240.

oben genannten fetten Säuren von der Ameisensäure bis zur Caprinsäure enthalten, von der Laurostearinsäure gehen nur geringe Mengen über.

Um den Ueberschuss des Wassers im Destillate zu entfernen, übersättigt man mit kohlensaurem Natron, dampft im Wasserbade auf ein kleines Volumen ein, fügt verdünnte Schwefelsäure im Ueberschuss hinzu und destillirt abermals.

Von dem Destillat prüft man eine Probe nach Sättigung mit Ammoniak durch Kochen mit Silbernitrat auf Ameisensäure (Reduction von Silber). Das übrige Destillat sättigt man mit reinem Chlorcalcium und trennt im Scheidetrichter eine etwa abgeschiedene Oelschicht ab (ist ihre Quantität sehr gering, so filtrirt man die Oeltropfen haltige Flüssigkeit durch ein mit Chlorcalciumlösung getränktes Papierfilter ab). Die ölig abgeschiedenen Säuren werden, wenn genügende Quantität zu Gebote steht, fractionirter Destillation unterworfen, wobei das längere Beharren einer Siedetemperatur sofort zu erkennen giebt, welche Säure hauptsächlich vorhanden ist. Die Fractionen, welche hauptsächlich Essigsäure und Propionsäure enthalten, werden nöthigenfalls nach nochmaliger Fractionirung zweckmässig mit Ammoniak gesättigt in hinreichend concentrirter wässeriger Lösung durch fractionirte Fällung mit Silbernitrat in Silbersalze verwandelt. Die Wägung und Analyse derselben ergiebt die Menge und Zusammensetzung dieser fetten Säuren. Die Fractionen, welche hauptsächlich Buttersäure, Isobuttersäure, Valeriansäure enthalten können, werden ebenso zu behandeln sein, wenn es sich nicht gerade um Entscheidung zwischen normaler und Isobuttersäure handelt, für welche die Schwerlöslichkeit des buttersauren Kalkes in heissem Wasser, die unvollständige Löslichkeit der freien Isobuttersäure in wenig Wasser und das verschiedene Verhalten der Guanaminverbindungen die Unterschiede ergeben. Capronsäure kann durch Waschen mit etwas Wasser von Buttersäure befreit werden. Capron-, Capryl- und Caprinsäure können durch fractionirte Fällung und Krystallisation der Barytsalze nach vorausgehender fractionirter Destillation (vergl. oben § 32 am Ende) getrennt werden. Die Barytsalze dieser Säuren bildet man durch Uebersättigen mit Barytwasser, Einleiten von CO_2, Abdampfen zur Krystallisation, Extraction mit heissem Wasser, Filtriren und Abdampfen zur Krystallisation.

Die durch Chlorcalcium nicht abgeschiedenen Ameisensäure und Essigsäure werden durch Destillation von Chlorcalcium befreit, das wässerige Destillat mit Aetzbaryt alkalisch gemacht, dann CO_2 eingeleitet, filtrirt, zur Krystallmasse eingedampft, der Rückstand mit Wasser extrahirt, filtrirt und das Filtrat zur Krystallisation gebracht.

Die Barytsalze der fetten Säuren können für Wägung und Analyse

über 150° ohne Nachtheil zur Trocknung erhitzt werden, Silbersalze nicht über 100°. Den Silbergehalt erhält man durch Glühen gewogener Quantität des Salzes im Porcellantiegel, den Barytgehalt nach Veraschung durch Lösen in Salzsäure, Fällung mit Schwefelsäure und Glühen des schwefelsauren Baryt, den Calciumgehalt in dem bei 150° getrockneten Salz durch Glühen mit Gebläse oder Hempel'schem Glühofen und Wägung des Calciumoxyd.

Bei der Untersuchung des Harns kann es sich ereignen, dass Benzoësäure in das Destillat übergeht, welche dann besonders die Gruppe der Capron-, Capryl-, Caprinsäure verunreinigen würde, wenn Glieder derselben vorhanden sind.

Aufsuchung und Trennung der Palmitinsäure, Stearinsäure.

(Laurostearin-, Myristin-, Arachinsäure.)

35. Bei der Destillation wässeriger Flüssigkeiten mit Schwefelsäure gehen Palmitinsäure und Stearinsäure nicht in gut bestimmbaren Quantitäten über, da diese Säuren aber in Wasser und verdünnter Säure unlöslich, in Aether leicht löslich sind, so lassen sie sich leicht vom grössten Theile der mit ihnen in thierischen Flüssigkeiten zusammen auftretenden Stoffe trennen. Man schüttelt entweder, wenn man auf die freien Säuren untersuchen will, die hinreichend concentrirten Flüssigkeiten oder breiigen Massen, oder fein pulverisirten, festen Stoffe mit Aether, lässt einige Zeit stehen und giesst dann die Aetherlösung ab, oder man fügt, wenn man auf die an Basen gebundene Palmitinsäure und Stearinsäure prüfen will, vor dieser Behandlung verdünnte Schwefelsäure zu der zu untersuchenden Masse und schüttelt nun mit Aether u. s. w. Die klare Aetherlösung schüttelt man in einer Flasche mit etwas Natronlauge, giesst dann nach einiger Zeit den Aether ab, wäscht die Lauge noch einige Male zur Entfernung der Fette, die etwa im Aetherextracte enthalten sind, mit etwas Aether, erwärmt dann die Lauge auf dem Wasserbade zur Entfernung des in derselben gelösten Aethers und übersättigt dann mit Salzsäure.

Palmitinsäure, Stearinsäure, sowie die ihnen in der obigen Reihe (vergl. § 26) zunächst stehenden Säuren werden auf diese Weise ausgefällt. Um die Säure gut abzuscheiden, erhitzt man die Flüssigkeit zum Kochen, filtrirt nach dem Erstarren der Säure beim Erkalten der Flüssigkeit ab.

Man prüft nun den Schmelzpunkt des erhaltenen Säuregemisches, indem man dasselbe wieder zum Schmelzen erhitzt und in ein Capillarrohr etwas von dem Oel einsaugt. Man füllt dann einen Glaskolben

bis zum Halse mit klarem Wasser, setzt denselben auf ein Wasserbad und hängt ein Thermometer so auf, dass die Kugel mit dem das zu prüfende Säuregemisch enthaltenden Röhrchen in der Mitte des Kolben im Wasser sich befindet (man bindet zu diesem Zwecke am Besten das Röhrchen an das Thermometer), erhitzt allmälig das Wasserbad und beobachtet, bei welcher Temperatur das Schmelzen und dann wieder beim Erkalten die Erstarrung eintritt (vergl. § 33 Tabelle der Schmelzpunkte).

Dieser Gang der Untersuchung erleidet weitere Complication, wenn die untersuchten Substanzen Cholalsäure oder Lithofellinsäure enthielten, da diese Säuren dann auch im obigen Säuregemische enthalten sein werden. Um nun auch von diesen Stoffen Palmitinsäure und Stearinsäure zu trennen, schüttelt man die ätherische Lösung der Säuren mit überschüssigem Barytwasser gut zusammen, filtrirt den Niederschlag ab, wäscht ihn mit wenig kochendem Wasser mehrmals aus, zuletzt mit warmem Weingeist, zerlegt das rückständige Barytsalz mit Salzsäure, wäscht mit Wasser gut aus und erhält als Rückstand das Gemisch von Palmitinsäure und Stearinsäure, wenn überhaupt beide vorhanden sind. Nach der Bestimmung des Schmelzpunktes, die mit der geschmolzenen Masse in der oben beschriebenen Weise ausgeführt wird, löst man in heissem Alkohol, fügt zur Sättigung der Säure hinreichende Lösung von kohlensaurem Natron hinzu und dampft auf dem Wasserbade zur Trockne ab, erhitzt noch im Luftbade auf 130°, extrahirt dann den fein gepulverten Rückstand mit kochendem absoluten Alkohol und filtrirt heiss. Diese Lösung von palmitinsaurem und stearinsaurem Natron wird nun fractionirt gefällt; man erhitzt nämlich dieselbe wieder auf dem Wasserbade bis nahe zum Sieden, fügt dann zunächst 1 bis 2 Tropfen Lösung von Chlorbarium oder von essigsaurem Baryt hinzu, filtrirt schnell, erhitzt das Filtrat wieder zum Sieden, fügt eine neue kleine Portion Barytsalzlösung hinzu und filtrirt heiss durch ein anderes Filterchen und fährt in dieser Weise fort, bis ein neuer Zusatz von Barytsalz zur alkoholischen Lösung keinen weiteren Niederschlag giebt.

Der erste Barytniederschlag kann etwas kohlensauren Baryt enthalten; die übrigen Niederschläge untersucht man nach dem Waschen mit warmem Alkohol und Trocknen bei 120° in derselben Weise auf ihren Barytgehalt, wie es im vorigen Paragraphen für die Barytsalze der anderen Glieder der Gruppe der fetten Säuren angegeben ist. Es enthalten nach den Formeln:

100 Gew.-Thle. Palmitinsaurer Baryt 21,17 Gew.-Thle. Barium.
„ „ „ Stearinsaurer „ 19,49 „ „ „

Steht nicht so viel Material zu Gebote, um die angegebenen Unter-

suchungen auszuführen, so kann man durch das Verhalten der mit Aether extrahirten Substanzen gegen Alkalilauge und Säuren, Schmelzen beim Erwärmen und Krystallisation beim Erkalten der heissen alkoholischen Lösung wohl mit Wahrscheinlichkeit ein Gemisch beider Säuren erkennen, aber man weiss nichts über die Zusammensetzungen desselben.

Oelsäure $C_{18}H_{34}O_2$.

36. Die Oelsäure findet sich gebunden an Glycerin in allen Fetten des thierischen Körpers und kommt im freien Zustande oder an Alkali gebunden höchstens in Spuren an anderen Orten vor als im Darminhalte.

Zur Darstellung eignet sich das unten bezüglich ihres Nachweises angegebene Verfahren.

Die reine Oelsäure bildet bei gewöhnlicher Temperatur eine farb-, geschmack- und geruchlose ölige Flüssigkeit, die, wenn sie vorher bei niederer Temperatur erstarrt ist, bei 14° schmilzt. Sie ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol oder Aether, Chloroform. Im Wasserdampfstrome von 250° destillirt die Oelsäure unzersetzt über. Die destillirte Säure verändert sich nur sehr langsam, die nicht destillirte schnell an der Luft unter Sauerstoffaufnahme und Bildung der sauren Substanzen, welche im alten Fette den ranzigen Geruch und Geschmack bewirken. Die Verbindungen der Oelsäure mit Alkali sind löslich in Wasser oder Alkohol, nicht löslich in concentrirter Alkalilauge oder Salzlösungen; die Natronverbindung ist bei gewöhnlicher Temperatur nicht zerfliesslich, wohl aber die Kaliverbindung; auf dieser Differenz der Eigenschaften beruht die Verschiedenheit der Kali- und Natronseifen. Die wässerige Lösung der Alkaliverbindungen wird durch essigsaures Bleioxyd gefällt, der weisse zähe Niederschlag, ölsaures Bleioxyd, welcher die zähe klebrige Beschaffenheit der Bleipflaster bedingt, ist löslich in Aether, weniger in Alkohol, unlöslich in Wasser. Oelsäure verbindet sich direct mit Brom.

Beim schnellen Erhitzen für sich oder mit einem Ueberschusse an Aetzkali giebt die unzersetzte Oelsäure Sebacylsäure, welche durch heisses Wasser aus dem Rückstande gelöst, heiss filtrirt, nach dem Erkalten der concentrirten Lösung sich in seideglänzenden blättrigen Nadeln abscheidet, die sich in Alkalilauge leicht lösen.

Durch Einleiten von wenig salpetriger Säure wird die Oelsäure bald fest unter Bildung der ihr isomeren, bei 45° schmelzenden Elaïdinsäure.

Mit Kalihydrat zum Schmelzen vorsichtig erhitzt zerlegt sich Oel-

säure in Palmitinsäure und Essigsäure. Mit Jodwasserstoff und rothem Phosphor auf 210° erhitzt wird Oelsäure zu Stearinsäure reducirt.

Zur Gewinnung der Oelsäure kann man in gleicher Weise zunächst verfahren, wie es für die Palmitin- und Stearinsäure im vorigen Paragraphen angegeben ist. Man neutralisirt durch Schütteln der ätherischen Lösung mit ein wenig wässriger verdünnter Natronlauge, schüttet den Aether ab, wäscht die Lauge noch mit einigen Aetherportionen, leitet dann Kohlensäure zur Sättigung des freien Alkali ein, dampft zur Trockne ab, extrahirt den Rückstand mit heissem Alkohol, filtrirt, fällt die alkoholische Lösung mit essigsaurem Bleioxyd, dampft das Ganze zur Trockne ein und extrahirt den Rückstand mit Aether, welcher nur das ölsaure Bleioxyd aufnimmt. Man filtrirt die ätherische Lösung ab, schüttelt sie mit verdünnter Salzsäure in einem mit Kohlensäure vorher gefüllten Gefässe, giesst dann die ätherische Lösung der Oelsäure ab und destillirt aus einem mit Kohlensäure gefüllten Kolben den Aether ab.

Das Verhalten gegen Bleioxyd, wie es die Darstellung ergiebt, ferner das Verhalten der gewonnenen öligen Säure gegen salpetrige Säure und die Zerlegung in Palmitinsäure und Essigsäure beim Schmelzen mit Aetzkali dienen zum Nachweis der Oelsäure.

Alkohole.

Aethylalkohol C_2H_5OH.

37. Spuren von Alkohol finden sich in den menschlichen Organen, wie Gehirn, Muskeln, Leber, nicht allein nach Alkoholgenuss, sondern sie scheinen auch ohne letzteren stets vorhanden zu sein. Rajewski*) fand in ganz frischem Muskelfleisch und Gehirn von Kaninchen, Pferd und Rind, Leber vom Hunde bei Destillation mit Wasser im Destillat geringe mit Kalilauge und Jod durch Jodoformbildung nachweisbare Quantitäten und stellte aus frischem Pferdefleisch Alkohol dar, den er mit Platinmohr in Aldehyd und Essigsäure überführte. Béchamp fand gleichfalls Alkohol in der Leber. Die Eigenschaften des Aethylalkohol sind in jedem Lehrbuch der Chemie geschildert.

Um sehr geringe Mengen Alkohol aus thierischen Organen zu gewinnen, destillirt man die schnell zerkleinerten Organe mit Wasser, indem man nur die zuerst übergehenden Portionen auffängt, diese nochmals rectificirt, das zweite Destillat mit Kaliumcarbonat fast sättigt, abermals destillirt und nun vollständig mit dem Carbonat sättigt. Sind irgend

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 11. S. 122.

wesentliche Quantitäten Alkohol vorhanden, so werden sie in Tropfen sich ausscheiden. Man destillirt dann, mögen ölige Tropfen aufgetreten sein oder nicht, wieder eine kleine Portion ab und prüft 1) einige Tropfen des Destillats mit Kaliumbichromat und Schwefelsäure, 2) ein paar Tropfen nach Lieben's Methode mit Aetzkalilauge und etwas Jod. Ist Alkohol vorhanden, so giebt die erste Probe beim Sieden Grünfärbung, die zweite gelblichen Niederschlag von Jodoform, bestehend aus mikroskopischen regelmässig hexagonalen Täfelchen. Sind durch Kaliumcarbonat ölige Tropfen abgeschieden und diese durch Destillation abgetrennt, so kann man mit ihnen in einem Schälchen bei gutem Luftzutritt Platinmohr am Besten mit Asbest gemengt leicht benetzen und erhält alsbald den Geruch nach Aldehyd, wenn Alkohol zugegen ist. Extrahirt man dann mit etwas Wasser, fügt zur Lösung einen Tropfen Silbernitrat und erwärmt, so scheidet sich metallisches Silber aus. Lässt man die Tropfen des Destillats auf dem Platinmohr einige Zeit stehen, so werden sie stark sauer, filtrirt man dann, fügt ein wenig Silberoxyd hinzu, erwärmt und filtrirt, so enthält die Lösung essigsaures Silber. Wenn diese Reactionen gelingen, kann über die Anwesenheit von Alkohol im ursprünglichen Destillate kein Zweifel sein, während die Jodoformbildung auch bei Behandlung von Aceton mit Kalilauge und Jod eintritt und die Reduction der Chromsäure durch sehr viele organische Stoffe geschieht.

Cetylalkohol $C_{16}H_{33}OH$.

38. Im Wallrath, ebenso im Secret der Bürzeldrüse von Enten und Gänsen*) findet sich Cetylalkohol in Verbindung mit fetten Säuren, hauptsächlich mit Palmitinsäure. Man stellt ihn aus dem Rückstande des Aetherextractes dieser Substanzen durch Verseifung mit alkoholischer Kalilauge, Fällen des Alkohols mit Wasser und öfteres Umkrystallisiren aus Aether oder Eisessig dar.

Der reine Cetylalkohol krystallisirt in dünnen blätterigen Tafeln, die bei 50° schmelzen zu einer Flüssigkeit von 0,8105 spec. Gew. bei 60°, welche bei 344° unzersetzt destillirt. Er ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol, Aether, Eisessig. Beim andauernden Erhitzen mit Säuren verbindet er sich mit denselben zu Aetherarten und geht mit Kalihydrat auf 220 bis 275° erhitzt in Palmitinsäure über.

Palmitinsäure-Cetylester, der Hauptbestandtheil des Wallraths, Schmelzpunkt 53,5°.

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 225.

Methylmercaptan CH_3SH.

fanden Nencki und Sieber[1]) regelmässig unter den Gasen, welche sich bei der Zersetzung von Eiweiss und Leim durch die verschiedensten Bakterien bilden. L. Nencki[2]) konnte es in den menschlichen Exkrementen nachweisen. Es entsteht auch, wie Nencki und Schoubenko[3]) feststellten, wenn man Eiweiss und Leim (20 gr) mit Aetzkali (200 gr) $^3/_4$ bis 1 Stunde bis auf 250—280^0 erhitzt. Das Methylmercaptan stellt eine leichte, auf Wasser schwimmende Flüssigkeit dar, welche bei 20^0 siedet und einen charakteristischen unangenehmen Geruch (nach faulem Kohl) besitzt.

Um es aus der Kalischmelze zu gewinnen, löst man dieselbe in Wasser, säuert mit Oxalsäure an (in Betreff der genauen Beschreibung siehe die Originalarbeit), erwärmt und fängt die übergehenden Gase in 3 procentiger Quecksilbercyanidlösung auf. Den entstehenden Niederschlag von Schwefelquecksilber und Methylmercaptanquecksilber filtrirt man ab, wäscht ihn und löst in Salzsäure. Das freigewordene Methylmercaptan leitet man in eine Lösung von essigsaurem Blei, es scheidet sich Methylmercaptanblei in Form eines gelben Niederschlags von mikroskopischen Tafeln und Prismen ab.

Aceton CH_3-CO-CH_3.

39. In zahlreichen Fällen von Diabetes hat man Aceton in dem Destillat des Harns nachgewiesen und mit aller Wahrscheinlichkeit auch die Beimischung von Acetondampf in den Exspirationsgasen aufgefunden. v. Jaksch[4]) findet Aceton im Destillate jedes Harns, welcher sich mit Eisenchlorid roth färbt, vielfach auch von solchen, die diese Reaction nicht gaben; er fand Aceton stets im Harn von Fieberkranken.

Aceton bildet sich reichlich bei der trockenen Destillation von ferner essigsaurem Kalk, von Holz, Zucker und Kalk, Citronensäure u. s. w., durch Oxydation von Isopropylalkohol, β-Oxybuttersäure. Es ist eine mit Wasser, Alkohol oder Aether sich mischende Flüssigkeit von angenehmem, eigenthümlichen Geruch, siedet bei 56,3^0 und hat das spec. Gew. 0,814 bei 0^0, verbindet sich mit sauren schwefligsauren Alkalien zu krystallisirenden Verbindungen, wird durch Natriumamalgam und Wasser zu Isopropylalkohol umgewandelt. Es entsteht aus Acetylessigäther durch Ein-

---

[1]) Monatshefte f. Chem. Bd. 10. S. 526.

[2]) Ebendas. Bd. 10. S. 862.

[3]) Archives des scienc. biologiq. publiées par l'institut impérial de médic. expériment. à St. Petersbourg. tom. 1 p. 315.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6. S. 541.

wirkung starker Säuren oder Alkalien neben CO_2 und Alkohol, aus der Acetylessigsäure durch einfaches Erhitzen. Mit Jod und Kalilauge behandelt giebt es Jodoform.

Diese letzte Reaction geben selbst sehr geringe Spuren von Aceton in Destillaten, da sie aber auch mit Aethylalkohol und anderen flüchtigen Substanzen eintritt, genügt sie nicht zur Erkennung des Aceton. Man destillirt zur Erkennung von Aceton grosse Mengen vom diabetischen Harn u. s. w., säuert das Destillat mit Schwefelsäure an, destillirt noch mehrmals und fängt stets nur den zuerst übergehenden Theil in stark gekühlter Vorlage auf.

Zum Nachweis von Aceton stellt man mit Portionen des Destillats folgende Proben an:

1) Eine Portion im Probirglas mit etwas Jodjodkaliumlösung versetzt giebt auf Zusatz von wenig Natronlauge gelblich weisse Trübung und allmälig Abscheidung von 6seitigen mikroskopischen Plättchen von Jodoform.

2) Eine andere Portion mit frisch aufgelöstem Nitroprussidnatrium versetzt, giebt mit Natronlauge Rothfärbung, bald in Gelb übergehend. Fügt man jetzt Essigsäure hinzu, so entsteht Purpur- bis Carminroth-Farbe; ähnlich aber langsamer mit Ammoniak statt Natronlauge.

3) Eine dritte Portion wird mit Lösung von Sublimat oder Mercurinitrat gemischt, dann mit alkoholischer Aetzkalilösung bis zur stark alkalischen Reaction versetzt und stark umgeschüttelt, filtrirt. Schichtet man über das Filtrat etwas Schwefelammonium ohne Umschütteln, so zeigt sich an der Grenze der Flüssigkeiten Schwarzfärbung, wenn Aceton zugegen ist, da dasselbe unter diesen Verhältnissen etwas Quecksilber löst.

Milchsäuren CH_3-CH, OH-CO_2H.

40. Es sind 3 verschiedene Säuren von der Zusammensetzung $C_2H_4(OH), CO_2H$ bekannt*), von denen die eine, Hydracrylsäure, künstlich aus β-Jodpropionsäure dargestellt, noch nicht in Organismen gefunden ist und durch ihre leichte Rückverwandlung mittelst JH in die Jodpropionsäure, sowie durch ihre Zersetzung in Acrylsäure und Wasser bei der trockenen Destillation von den übrigen scharf unterschieden ist. Von den übrigen eigentlichen Milchsäuren ist die bekannteste:

1) Die Gährungsmilchsäure oder Aethylidenmilchsäure, welche sich bei dem Sauerwerden der Milch aus Milchzucker durch Gährung, auch bei der Gährung des Sauerkohls, der Gurken etc. bildet,

*) Erlenmeyer, Annal. Chem. Pharm. Bd. 191. S. 261.

synthetisch aus Aldehyd, Blausäure und Salzsäure, durch Einwirkung von salpetriger Säure auf Alanin, durch Behandlung von α-Jodpropionsäure mit Silberoxyd, oder von Brenztraubensäure mit Wasserstoff im Entstehungszustand, beim Erhitzen von Frucht- oder Traubenzucker mit mässig verdünnter Alkalilauge, endlich durch Fäulniss aus Aepfelsäure, Glycerin entsteht.

Sie findet sich häufig, wenn nicht constant, im Magen- und Darminhalt von Menschen und Säugethieren, nach Heintz auch in den Muskeln[1]), nach Gscheidlen in der grauen Substanz des Gehirns, nach Salomon im menschlichen Leichenblute, nicht im Aderlassblute.

Zur Darstellung der Gährungsmilchsäure versetzt man Rohrzuckerlösung mit saurer Milch und Zinkoxyd und lässt unter öfterem Umrühren bei warmer Temperatur einige Zeit stehen. Die abgesetzten Krusten von milchsaurem Zink werden in heissem Wasser gelöst, filtrirt und aus der noch heissen Lösung durch Schwefelwasserstoff das Zink niedergeschlagen, wieder filtrirt, die Lösung auf dem Wasserbade verdunstet und aus dem syrupartigen Rückstande die freie Milchsäure durch Schütteln mit Aether in diesen aufgenommen und aus der ätherischen Lösung durch Abdestilliren des Aethers gewonnen.

2) Die Fleischmilchsäure oder Paramilchsäure wird aus den Muskeln erhalten, ist daher wesentlicher Bestandtheil des Liebig-schen Fleischextractes; Strecker fand sie in der Galle, Schultzen in dem Harne von Menschen und Thieren bei Phosphorvergiftung. Aus pathologischen Transsudaten wird sie oft reichlich gewonnen. Die bei Osteomalacie in den Knochen, beim Puerperalfieber im Schweisse gefundene Milchsäure ist wahrscheinlich gleichfalls Paramilchsäure. Synthetisch ist sie noch nicht dargestellt, dagegen ist es Schardinger[2]) gelungen, durch Einwirkung einer Art von Bacillen durch Gährung aus Rohrzucker eine Linksmilchsäure darzustellen, deren Salze in wässeriger Lösung Rechtsdrehung zeigen.

In den meisten Fällen, besonders wenn es sich darum handelt, die Fleischmilchsäure aus Muskeln, Galle oder pathologischen Flüssigkeiten auch möglichst vollständig zu gewinnen, wird das folgende Verfahren benutzt. Das Fleisch wird zerkleinert, mit kaltem Wasser mehrmals extrahirt, abfiltrirt und ausgepresst, das Extract oder die sonst zur Darstellung benutzte und wenn nöthig vorher mit verdünnter Schwefelsäure schwach angesäuerte Flüssigkeit durch Kochen und Filtration von Eiweissstoffen befreit, mit Aetzbaryt versetzt so lange

[1]) Heintz, Annal. Chem. Pharm. Bd. 157. S. 320.
[2]) Monatshefte f. Chemie. Bd. 11. S. 545.

Niederschlag erfolgt, nach Ausfällen des überschüssigen Baryt durch einen Kohlensäurestrom zum dünnen Syrup eingedampft bei zuletzt mässiger Temperatur (nicht über 70°), um Braunfärbung zu vermeiden. Der Syrup wird mit absolutem Alkohol gemischt, allmälig mehr und mehr Alkohol hinzugefügt bis mindestens zum 10fachen Volumen des Syrup, gut umgerührt, kurze Zeit stehen gelassen, dann abgegossen, der Rückstand in wenig Wasser wieder gelöst und abermals mit Alkohol in gleicher Weise behandelt.

Von der abgegossenen und filtrirten alkolholischen Lösung wird der Alkohol abdestillirt und der dünne syrupöse Rückstand auf dem Wasserbade bei mässiger Wärme zur Entfernung des Alkohol digerirt. Nach dem Erkalten fügt man zum rückständigen dicklichen Syrup ungefähr das gleiche Volumen mässig verdünnter Phosphorsäure, bringt diese Mischung in eine grosse Flasche und schüttelt darin mit grossen Mengen Aether, welche die Milchsäure bei häufiger Erneuerung der aufgegossenen Aethermengen allmälig vollständig, zugleich aber auch etwas Phosphorsäure aufnehmen.

Die Anwendung der Phosphorsäure zur Abtrennung der Milchsäuren von den Basen, von Drechsel zuerst benutzt, hat den grossen Vortheil, dass bei genügendem Zusatz dieser Säure die Milchsäure vollständig frei gemacht wird, während Chlorverbindungen und Sulfate nicht zerlegt werden, so dass der Aether bei Abwesenheit anderer organischer Säuren nur Milchsäure und insbesondere keine Salzsäure enthält. Von den klar abgegossenen Aetherauszügen wird der Aether abdestillirt, der Rückstand mit Wasser und überschüssigem Zinkcarbonat geschüttelt und einige Zeit im Sieden erhalten, dann heiss abfiltrirt, der Rückstand ein- oder mehrmals mit Wasser gekocht und filtrirt und die gesammten Filtrate auf kleines Volumen auf dem Wasserbade verdunstet, dann zur Krystallisation stehen gelassen. Bleibt ein Theil amorph, so kann durch Zusatz von etwas Alkohol und Stehenlassen weitere Krystallisation erhalten werden.

Aus dem Zinksalz in heissem Wasser gelöst kann durch Schwefelwasserstoff das Zink als Sulfid ausgefällt und nach Filtration beim Verdampfen auf dem Wasserbad zum Syrup die Milchsäure erhalten werden.

Dies Verfahren zur Darstellung oder Bestimmung ist für die Gährungsmilchsäure ebenso anwendbar wie für die Fleischmilchsäure.

Die beiden Milchsäuren stellen syrupöse Flüssigkeiten dar, welche bei längerem Erhitzen und selbst beim langen Stehen über Schwefelsäure bei gewöhnlicher Temperatur allmälig Wasser verlieren. Sie mischen sich in allen Verhältnissen mit Wasser, Alkohol, Aether, besitzen stark saure Reaction und rein sauren Geschmack, verflüchtigen

sich beim Kochen ihrer Lösungen nicht unerheblich mit den Wasserdämpfen, sind einbasische Säuren und zugleich einsäurige Alkohole, bilden mit Metallen wohl charakterisirte neutrale Salze, von denen die Alkalisalze sehr leicht löslich und schwer krystallisirt zu erhalten sind. Die Calcium- und Zinkverbindungen sind hauptsächlich untersucht und von besonderer Wichtigkeit, weil auf ihrer Verschiedenheit die Unterscheidung der beiden Milchsäuren vor Allem beruht. Die Bleiverbindungen sind meist in Wasser leicht löslich.

Die Gährungsmilchsäure ist optisch inactiv, die Fleischmilchsäure giebt eine Rechtsdrehung der Polarisationsebene, die sehr abhängig ist von der Concentration. Das Zinksalz in wässeriger Lösung zeigt $(\alpha)_D = -7{,}65$ für krystallisirtes Salz. Alle Salze der Fleischmilchsäure zeigen linksseitige Drehung.

Das Zinksalz der Gährungsmilchsäure krystallisirt mit 18,18 pCt. H_2O und entspricht dann der Formel $(C_3H_5O_3)_2Zn + 3H_2O$. 1 Theil desselben löst sich bei 15° in 53 Theilen Wasser, in Alkohol ist es unlöslich. Das fleischmilchsaure Zink $(C_3H_5O_3)_2Zn + 2H_2O$ enthält nur 12,9 pCt. H_2O, 1 Theil löst sich in 17,5 Theilen Wasser oder 1109 Theilen Alkohol bei 14—15°. Das Kalksalz der Fleischmilchsäure $(C_3H_5O_3)_2Ca + 4H_2O$ ist gleichfalls verschieden durch Krystallwassergehalt und Löslichkeit vom gährungsmilchsauren Kalk $(C_3H_5O_3)_2Ca + 5H_2O$, aber beide krystallisiren in blumenkohlähnlichen Kugeln von feinen mikroskopischen Nadeln. Die Barytsalze krystallisiren nicht.

Gährungs- und Paramilchsäure geben beim Erhitzen mit mässig verdünnter Schwefelsäure Aldehyd und Ameisensäure. Längere Zeit auf 150° im trocknen Luftstrome erhitzt gehen Gährungs- und Paramilchsäure in Laktid über, welches in Nadeln sich verdichtet und beim Kochen mit Wasser und kohlensaurem Zink in optisch inactive Gährungsmilchsäure übergeht; man kann also auf diesem von Strecker gefundenen Wege Paramilchsäure in Gährungsmilchsäure überführen. Laktid aus beiden Milchsäuren hat den Schmelzpunkt 124,5° und Siedepunkt 255°. Hydracrylsäure zerfällt beim Erhitzen in Wasser und Acrylsäure.

Der Nachweis der Milchsäuren und ihre Trennung sowohl von anderen Stoffen als von einander beruht auf den geschilderten Darstellungsmethoden und den beschriebenen Unterschieden der Löslichkeit in Wasser und in Alkohol und des Krystallwassergehaltes ihrer Zinksalze, der circumpolarisirenden Eigenschaft der einen und den verschiedenen Oxydationsproducten. Die Leichtlöslichkeit ihrer Barytsalze lässt eine leichte Trennung von den meisten anderen organischen Säuren zu.

Acetessigsäure $CH_3-CO-CH_2-COOH$.

41. Im Harne von Diabetikern ist Acetylessigsäure nicht selten ziemlich reichlich enthalten [1]), fehlt dagegen im Harne bei Diabetes oft, kommt in sonst sehr geringen Mengen im Harne von Fieberkranken und bei verschiedenen Krankheiten vor [2]). Ist die Menge dieser Säure im Harne nicht sehr gering, so färbt sich derselbe nach tropfenweisem Zusatz von Eisenchlorid violettröthlich. Deutlicher tritt die Färbung hervor, wenn man den auf Zusatz weniger Tropfen Eisenchlorid entstehenden Niederschlag von Eisenphosphat zunächst abfiltrirt und das Filtrat für die Reaction benutzt. Auch die geringsten Spuren sind erkennbar, wenn der Harn mit Schwefelsäure angesäuert destillirt wird. Es zerlegt sich bei 100° die Acetessigsäure in CO_2 und in das Destillat übergehendes Aceton, dessen Nachweis mittelst der § 39 angegebenen Reactionen gut zu führen ist. Der Acetessigsäureäthylester giebt mit Eisenchlorid dieselbe Reaction gegen Eisenchlorid wie die neutralen Salze der Säure. Aus diesem Ester wird die freie Säure erhalten durch 24 Stunden langes Stehen von $4^1/_2$ Theilen desselben in einer Lösung mit 2,1 Thl. Aetzkali und 80 Thl. Wasser. Die Lösung wird dann mit Schwefelsäure angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Beim Verdunsten des Aethers bleibt sie als stark sauer reagirende syrupöse Flüssigkeit zurück, die mit Wasser sich gut mischt. Die dargestellten Barium- und Kupfersalze sind amorph; sie werden beim Erhitzen der Lösung unter Entweichen von Aceton und Zurückbleiben von Carbonat zerlegt. Bei Behandlung von Acetessigester mit Natriumamalgam bei niedriger Temperatur bildet sich β-Oxybuttersäure, welche bei Oxydation mit Chromsäure in Aceton und CO_2 zerfällt.

β—Oxybuttersäure $CH_3-CH, OH-CH_2-COOH$.

42. Diese Säure findet sich besonders in schweren Fällen von Diabetes [3]), ist aber ausserdem auch bei verschiedenen anderen Krankheiten, wie Masern, Scharlach, bei Scorbut zuweilen gefunden, fehlt im diabetischen Harne oft.

Aus diabetischem Harne erhält man die Säure [4]), nachdem durch Vergähren mit Presshefe die Glucose entfernt ist, durch Abdampfen zum

[1]) Tollens u. Deichmüller, Annal. Chem. Pharm. Bd. 209. S. 22 u. 30. Gerhardt, Wien. med. Presse 1865. S. 673.

[2]) v. Jaksch, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7. S. 487.

[3]) E. Külz, Zeitschr. f. Biologie Bd. 20 S. 165 u. Bd. 23 S. 329. Minkowski, Arch. f. exper. Path. und Pharm. Bd. 18. S. 35. u. 147. R. Külz, Ebendas. Bd. 18 S. 291.

[4]) Verfahren von E. Külz.

dünnen Syrup, Neutralisiren mit Natronlauge und weitere Concentration. Der Syrup wird mit dem 3fachen Volumen 95 procentigen Alkohol gefällt und filtrirt, das Filtrat destillirt, der Rückstand mit absolutem Alkohol gefällt, filtrirt, abdestillirt, der Rückstand abermals mit absolutem Alkohol gefällt und diese Behandlung wiederholt, bis absoluter Alkohol keine Fällung mehr giebt. Nach dem Abdestilliren des Alkohol wird der Rückstand 3 mal mit dem gleichen Volumen Aether ausgeschüttelt. Der vom Aether nicht gelöste Rückstand wird mit Schwefelsäure übersättigt, ein gleiches Vol. Aether hinzugefügt, ausgeschüttelt, die Aetherlösung abgegossen, der Rückstand wieder mit dem gleichen Vol. Aether ausgeschüttelt u. s. w., solange durch Circumpolarisation in dem Auszuge noch β-Oxybuttersäure nachgewiesen wird. Der braune Syrup, welcher beim Abdestilliren des Aethers zurückbleibt, wird in Wasser gelöst, mit basischem Bleiacetat gefällt, so lange Niederschlag entsteht, aus der abfiltrirten Flüssigkeit durch Schwefelwasserstoff das Blei entfernt, dann eingedampft, zur Entfernung der Essigsäure wieder Wasser zugefügt und abgedampft. Dann wird das Barytsalz dargestellt, die Lösung desselben mit salpetersaurem Quecksilberoxyd gefällt und die saure Reaction häufig mit Aetzbaryt neutralisirt, das Filtrat durch Schwefelwasserstoff vom Quecksilber befreit, nach Verdampfen des Schwefelwasserstoffs mit Aetzbaryt neutralisirt, stark eingeengt und mit dem 5fachen Volumen Alkohol das Bariumnitrat entfernt. Aus der Alkohollösung erhält man das Barytsalz der β-Oxybuttersäure als farblosen Syrup beim Abdampfen.

Statt der Behandlung mit Bleiessig und Mercurinitrat kann aus dem Barytsalz in concentrirter Lösung durch Zusatz von concentrirter ammoniakalischer Lösung von schwefelsaurem Silber das Silbersalz ausgefällt und durch öfteres Umkrystallisiren gereinigt werden. Durch Zerlegung mit Schwefelwasserstoff wird dann β-Oxybuttersäure reingegewonnen.

Die reine Säure mischt sich mit Wasser, Alkohol, Aether in jedem Verhältniss, ist syrupartig und zeigt spec. Drehung im Mittel nach E. Külz $(\alpha)D = -23{,}4^0$ nach Minkowski $= -20{,}6^0$. Das Ammoniaksalz nach Külz im Mittel $(\alpha)D = -16{,}3^0$.

Zum Nachweis der β-Oxybuttersäure im Harne empfiehlt Külz: 100 Cbcm. der 24 stündigen Harnmischung mit einem erbsengrossen Stück Presshefe versetzt der Gährung zu überlassen. Nach der Gährung wird der Harn mit Bleizuckerlösung geklärt und mit dem Polarisationsapparat geprüft. Ist Linksdrehung vorhanden und wird dieselbe durch Bleiessig und Ammoniak nicht entfernt, so ist ein Gehalt

an β-Oxybuttersäure wahrscheinlich, besonders wenn der frische Harn mit Eisenchlorid die violett-rothe Färbung[1]) durch vorhandene Acetessigsäure liefert. Man dampft dann eine grössere Portion des vergohrenen Harns zum Syrup ein, mischt mit dem gleichen Volumen Schwefelsäure und destillirt die Mischung ohne Kühler in ein Probirröhrchen als Vorlage unter starker Kühlung desselben. Vielleicht scheidet sich bei starker Kühlung bereits eine Krystallisation von α-Crotonsäure[2]) (Schmelzpunkt 72°) aus. Ist dies nicht der Fall, so schüttelt man das Destillat mit Aether aus, giesst die Aetherlösung ab, verdunstet und trennt im Rückstand nöthigenfalls die α-Crotonsäure von Benzoësäure durch Behandlung des Rückstandes mit etwas Wasser, in dem sich die α-Crotonsäure leichter (bei 15° löst sich 1 Thl. in 12 Thl. Wasser) auflöst. Dieser Nachweis gelingt meist schon bei 100 Cbcm. Harn.

Stadelmann[3]) entfernt durch Kochen mit Kalkmilch mit Vortheil den Harnstoff aus den Harnrückständen, aus denen er dann die β-Oxybuttersäure gut als Zinksalz gewinnen konnte. Dies Zinksalz krystallisirt gut, ist in absolutem Alkohol schwer löslich und bildet Nadeln, die nur wenig hygroscopisch sind. Auch in Wasser ist das Salz nicht leicht löslich. Das Cadmiumsalz bildet ebenfalls wenig hygroscopische Nadeln, das Kaliumsalz zerfliessliche Nadeln, das Silbersalz feine Nadeln oder Schuppen, krystallisirt leicht, wenn es rein ist, bei Anwesenheit von Harnstoff kann die Krystallisation ausbleiben.

Die optisch inactive β-Oxybuttersäure, wie sie durch Einwirkung von Natriumamalgam nach Wislicenus[4]) aus Acetessigäther gewonnen wird, ist im Harn und anderen Flüssigkeiten des Organismus noch nicht aufgefunden, ebensowenig eine rechtsdrehende Säure.

---

[1]) Eine ähnliche Färbung wie die Acetessigsäure geben mit Eisenchlorid Phenol, Salicylsäure, Zersetzungsprodukte des Antipyrins, des Thallins, der Chinanisolsalze und der Kairinschwefelsäure. Vergl. v. Jaksch, Ueber Acetonurie und Diaceturie, Berlin 1885.

[2]) α-Crotonsäure $CH_3-CH=CH-COOH$, in welche die β-Oxybuttersäure bei der Destillation unter Wasseraustritt übergeht, deren Löslichkeit in Wasser und Schmelzpunkt bereits oben angegeben sind, siedet bei 180—181° (185° corrig.), giebt bei der Oxydation mit Chromsäure Aldehyd und Essigsäure, beim Schmelzen mit Aetzkali 2 Mol. Essigsäure, wird durch Natriumamalgam nicht angegriffen. Die Salze krystallisiren gut, das Zinksalz mit $2H_2O$. Das Silbersalz ist schwer löslich in Wasser.

[3]) Zeitschr. f. Biologie 1887. Bd. 23. S. 456.

[4]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 149. S. 205.

Oxalsäure COOH-COOH.

43. Die Oxalsäure ist bei Menschen und höheren Thieren bis jetzt nur als ungelöstes Kalksalz gefunden worden, und zwar kommt dies letztere fast ausschliesslich in den Harnsedimenten vor. Im Harne des Menschen, der Pferde, Schweine, Kaninchen ist fast stets etwas oxalsaurer Kalk zu finden, häufig bildet dieses Salz feste Concremente im Nierenbecken oder der Harnblase des Menschen, auch bei Schweinen, oder es nimmt nur Theil an der Bildung dieser Steine. Reichlich tritt der oxalsaure Kalk im menschlichen Harn bei gewissen chronischen Katarrhen der Harnblase, auch anderer Schleimhäute auf. In der Gallenblase oder den Fäces ist seltener oxalsaurer Kalk gefunden.

Der oxalsaure Kalk $C_2CaO_4 + H_2O$, das neutrale Salz der zweibasischen Oxalsäure, bildet sehr harte, meist mikroskopische Krystalle in der Form tetragonaler Octaëder, deren eine Axe etwas kürzer ist als die beiden anderen; die Krystalle sind stets farblos, Ecken und Kanten scharf ausgebildet. Zuweilen erscheint das Salz in der Form mikroskopischer rundlicher Knollen und Dumbbells. Das Salz ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, ebenso unlöslich in Ammoniak, kohlensauren Alkalien, fast ganz unlöslich in Essigsäure, etwas löslich in verdünnter oder concentrirter Milchsäure, auch in Lösungen von phosphorsaurem oder harnsaurem Natron ist der oxalsaure Kalk etwas löslich. In Salzsäure gelöst giebt der oxalsaure Kalk beim Verdunsten der Lösung ein Doppelsalz von Chlorcalcium mit oxalsaurem Kalke, welches in grossen rhombischen Tafeln krystallisirt und sich beim Zusatz von Wasser zerlegt.

Beim starken Erhitzen wird oxalsaurer Kalk ohne Verkohlung in kohlensauren Kalk verwandelt.

Zum Nachweise des oxalsauren Kalkes muss man sich meist mit der mikroskopischen Untersuchung begnügen. Im Harne findet man ihn auch bei stark saurer Reaction, wenn man denselben einige Zeit stehen lässt und das vielleicht kaum erkennbare Sediment, oft nur eine schleimige Nubecula, unter das Mikroskop bringt. Die Krystalle vergrössern und vermehren sich dann gewöhnlich beim Stehen des Harnes für einige Tage. Die Form der Krystalle, ihre Unlöslichkeit in Ammoniak, in Essigsäure, Löslichkeit in Salzsäure dienen dann zur Erkennung. In Concrementen weist man den oxalsauren Kalk durch Lösen in verdünnter Salzsäure, Fällen der abfiltrirten Lösung mit Ammoniak, Abfiltriren und Behandlung des Niederschlages mit Essigsäure nach. Den in Essigsäure unlöslichen körnigen oder feinpulverigen Niederschlag trocknet man, bringt ihn auf Platinblech, glüht schwach und prüft nach dem Erkalten, ob der Rückstand in Säuren, auch in Essigsäure, unter Aufbrausen löslich

ist und die Lösung durch oxalsaures Ammoniak gefällt wird. Findet sich somit in diesem Glührückstande kohlensaurer Kalk, so war oxalsaurer Kalk in der zu prüfenden Substanz.

Bernsteinsäure $CO_2H—CH_2—CH_2—CO_2H$.

44. Die Bernsteinsäure ist in geringen Quantitäten in sehr vielen thierischen Flüssigkeiten gefunden, stets reichlich in der Echinococcenflüssigkeit, dann im Safte verschiedener Organe als Milz, Thymus, Thyreoidea, in Hydrocephalus- und Hydroceleflüssigkeit, von Brieger im jauchigen Eiter, endlich von Meissner im Blute, Speichel, Harn, und zwar in letzterem bei Hunden ziemlich reichlich bei Fett- und Fleischnahrung, im Kaninchenharne bei Mohrrübenfütterung oder Eingeben von äpfelsaurem Kalk, im Speichel von Hunden sowie im Harne reichlich nach Eingeben von benzoësaurem Natron, nach Hilger im Harne reichlich nach Einnahme von asparaginsäurehaltigen Nahrungsmitteln; die meisten dieser Angaben sind später nicht bestätigt.

Die Bernsteinsäure bildet farblose vierseitige Nadeln oder sechsseitige Tafeln, die bei 180° schmelzen zu einer Flüssigkeit, die bei 235° unter theilweiser Zersetzung zu Anhydrid und Wasser siedet. Schon bei 120° entwickeln sich Nebel beim Erhitzen der Säure, welche eingeathmet heftig zum Husten reizen, eigenthümlich schmecken und riechen. 1 Theil Bernsteinsäure löst sich in 23 Theilen kaltem Wasser, leichter in heissem, weniger leicht in Alkohol, sehr wenig in Aether. Durch Salpetersäure wird sie nicht zersetzt, mit Kalihydrat erhitzt giebt sie Oxalsäure, mit Braunstein und Schwefelsäure Essigsäure. Bei Anwesenheit eines Uransalzes zerfällt sie in wässeriger Lösung, dem directen Sonnenlichte ausgesetzt, in Propionsäure und Kohlensäure.

Bernsteinsaure Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich, in Alkohol unlöslich, ebenso in Aether. Kalk- und Barytsalz sind in Wasser schwer, Magnesia- und Manganoxydulsalz leicht löslich. Eisenchlorid bringt in neutralen Lösungen bernsteinsaurer Salze einen in Wasser unlöslichen braunen flockigen Niederschlag hervor.

Zur Trennung der Bernsteinsäure von anderen Stoffen wandte man früher hauptsächlich die Extraction des Verdampfungsrückstandes der Flüssigkeiten mit Salzsäure und Aether an. Aus den zahlreichen Untersuchungen Meissner's*) über das Vorkommen der Bernstein-

*) Meissner und Jolly, Ueber das Entstehen von Bernsteinsäure im thierischen Stoffwechsel. Zeitschr. f. rat. Med. (3). Bd. 24. S. 97.

Meissner und Shepard, Untersuchungen über das Entstehen der Hippursäure im thierischen Organismus. Hannover 1866.

säure in thierischen Flüssigkeiten schien hervorzugehen, dass besonders die Unlöslichkeit bernsteinsaurer Alkalien in absolutem Alkohol zur Trennung von den meisten ähnlichen Körpern benutzt werden könnte, während die leichte Löslichkeit derselben in Wasser sie von harnsauren Salzen gut trennen liesse. Aus dem Blute gewinnt man sie hiernach durch Coagulation des mit Wasser verdünnten Blutes durch Sieden unter vorsichtigem Ansäuern mit verdünnter Salzsäure. Das klare farblose Filtrat wird mit Kali möglichst genau neutralisirt auf dem Wasserbade eingeengt, bis dasselbe dickflüssig zu werden beginnt, dann mit absolutem Alkohol vollständig ausgefällt, nach dem Erkalten filtrirt. Der Niederschlag in Wasser gelöst, filtrirt und eingeengt kann Krystalle von bernsteinsaurem Alkali liefern; mittelst eines mit Salzsäure versetzten Gemisches gleicher Theile Alkohol und Aether kann dann durch Schütteln mit der eingeengten wässerigen Lösung die freie Bernsteinsäure aufgenommen, durch Verdunsten der abfiltrirten Lösung dargestellt und bezüglich der mikroskopischen Form der Krystalle, ihres Verhaltens beim Erhitzen, der Eigenschaften des mittelst Kochen mit Wasser und kohlensaurem Kalk erhaltenen Kalksalzes, dessen Lösung heiss filtrirt beim Abdampfen Krystalle liefert, der Fällung der neutralen Alkalisalze oder des durch Kochen der wässerigen Lösung der Säure mit kohlensaurer Magnesia erhaltenen neutralen Magnesiasalzes in wässeriger Lösung durch Eisenchlorid u. s. w. untersucht werden. Neubauer empfiehlt die beim Verdunsten des sauren Aetherextractes erhaltene Säure in Wasser gelöst und zum Kochen erhitzt tropfenweise mit Salpetersäure zu versetzen, bis nur noch gelbe Färbung vorhanden ist, dann zur Krystallisation einzudampfen.

Im Harne fand Meissner die Bernsteinsäure nach folgender Methode: Der Harn wird mit Barytwasser gefällt, so lange Niederschlag entsteht, im Filtrate mit Schwefelsäure der Barytüberschuss möglichst genau ohne Ueberschuss der Schwefelsäure entfernt, die filtrirte alkalische Flüssigkeit dann bis zur beginnenden Harnstoffkrystallisation abgedampft, von abgeschiedenen harnsauren Salzen abfiltrirt und diese Flüssigkeit mit absolutem Alkohol versetzt, so lange noch Niederschlag entsteht. Der klebrige Niederschlag wird aus Wasser umkrystallisirt. Das bernsteinsaure Natron bildet dann charakteristische Krystalle. Aus diesem Salze kann die Bernsteinsäure durch Schwefelsäure abgeschieden, durch ihre Krystalle, Flüchtigkeit und oben angegebene chemische Eigenschaft weiter erkannt werden. Im Uebrigen sind die Originalarbeiten von Meissner nachzusehen. Salkowski*) konnte weder die Angaben

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 2. S. 367 u. Bd. 4. S. 95.

Meissner's bezüglich des Vorkommens der Bernsteinsäure im Harn bestätigen, noch seiner Methode einen Vorzug vor der älteren (Trennung der Bernsteinsäure durch Schütteln der abgedampften Salzmasse mit Aether und Salzsäure) einräumen.

Glutarsäure $C_5H_8O_4$.

Die Glutarsäure oder normale Pyroweinsäure ist von Brieger[1]) neben Bernsteinsäure im jauchigen Eiter gefunden. Diese Säure ist synthetisch aus Cyanpropylen, ferner durch Reduction aus Glutansäure oder Glutaminsäure dargestellt, bildet grosse flache Tafeln, leicht löslich in Wasser, schmilzt bei 97°, siedet bei 302° fast ohne Zersetzung. Das Calciumsalz $C_5H_6O_4Ca + 2H_2O$ löst sich leicht in kaltem, schwer in heissem Wasser, krystallisirt schwer, das Zinksalz löst sich bei 18° in 102 Thl. Wasser, in heissem Wasser noch schwerer.

Brieger säuerte jauchigen Eiter mit Schwefelsäure stark an und schüttelte mit Aether aus, entfernte dann durch Baryt die Schwefelsäure, versetzte das Filtrat mit Bleiessig, filtrirte, entfernte das Blei durch SH_2, engte dann die Flüssigkeit auf dem Wasserbade ein, behandelte mit Barytwasser, entfernte den Bariumüberschuss durch Kohlensäure, und erhielt aus dem Filtrat Barytsalz, welches mehrmals mit Schwefelsäure zersetzt und wieder gebildet und hierbei gereinigt wurde. Die freigemachten Säuren mit Thierkohle entfärbt, wurden dann in die Kalksalze verwandelt und durch Krystallisation bernsteinsaurer und glutarsaurer Kalk getrennt. Die freigemachte Glutarsäure schmolz bei 98° und war unzersetzt flüchtig.

Citronensäure $C_6H_8O_7$.

45. Citronensäure, weit verbreitet in höheren und niederen Pflanzen, findet sich auch in der Milch von Menschen, Kühen, Ziegen als regelmässiger Bestandtheil, der nicht aus der Nahrung herstammt[2]); sonst nirgends in thierischen Organen und Flüssigkeiten bis jetzt gefunden.

Die Citronensäure krystallisirt mit 1 Mol. Krystallwasser in rhombischen Prismen, die bei 100° schmelzen. Schmelzpunkt der wasserfreien Säure 153—154°. Die krystallisirte Säure löst sich sehr reichlich in kaltem Wasser, sie löst sich auch leicht in Alkohol, weniger reichlich in Aether. 3basische Säure, deren neutrales Kalksalz in Kali- oder Natronlauge unlöslich ist, aber löslich in Chlorammoniumlösung; diese Lösung, zum Kochen erhitzt, scheidet das Calciumcitrat aus, welches jetzt in Chlorammonlösung sich nicht wieder löst. Eine wässrige Citronensäurelösung mit Kalkwasser übersättigt, giebt in der Kälte keinen Niederschlag, beim Kochen fällt das Kalksalz aus. Das saure Kaliumsalz ist in Wasser leicht löslich. 1 Thl. Citronensäure mit 6 Thl. Ammoniak 6 Stunden lang auf 110—120° im zugeschmolzenen

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5. S. 366.

[2]) Th. Henkel, die landwirthschaftl. Versuchsstationen. Bd. 39. S. 143. 1891. A. Scheibe, ebendas. Bd. 39. S. 153. 1891.

Glasrohr erhitzt, dann in flache Schalen ausgegossen und an der Luft im Licht stehen gelassen, färbt sich nach einigen Stunden blau, später grün. Diese Reaction gelingt noch mit 10 Milligr. Citronensäure[1]).

Das leicht darstellbare Barytsalz $Ba_3(C_6H_8O_7)_2 + 3^1/_2 H_2O$ zeigt bei mikroskopischer Untersuchung charakteristische Formen.

Die Gewinnung aus der Milch siehe unten bei den Methoden der Milchuntersuchung.

Glycerin HO, CH_2—CH, OH—CH_2, OH.

46. Das Glycerin, welches im freien Zustande wohl nur in Spuren im Inhalte des Dünndarmes durch Einwirkung des pancreatischen Saftes auf Fette sich bilden mag, ist an Oelsäure und mehrere fette Säuren der Reihe $C_nH_{2n}O_2$ gebunden der allgemeinste Bestandtheil der Fette thierischen und pflanzlichen Ursprungs. Es bildet sich auch in geringer Quantität bei der alkoholischen Gährung des Traubenzuckers. Aus den Fetten wird es durch Verseifung gewonnen, durch Behandlung mit Bleioxyd in wässeriger Lösung von fetten Säuren gereinigt, durch Schwefelwasserstoff von Blei befreit und die Lösung eingedampft, bis die Temperatur der Flüssigkeit 160° erreicht hat.

Das Glycerin stellt in reinem Zustande eine farblose, geruchlose, süss schmeckende, sehr hygroskopische, in Wasser oder Alkohol in jedem Verhältnisse lösliche, syrupöse Flüssigkeit dar. Seine Lösungen sind ohne Reaction auf Lackmus. Das Glycerin ist ein dreiatomiger Alkohol, kann also mit 1, 2 oder 3 Atomen einbasischer Säuren sich zu Aethern verbinden und auch Verbindungen mit Metallen oder Alkoholen eingehen. Man nennt die Verbindungen des Glycerins mit Säuren Glyceride, zu diesen gehören auch die Fette.

Das Glycerin siedet im luftverdünnten Raume bei 50 mm Druck bei 210°, verflüchtigt sich in geringer Menge schon beim Kochen seiner wässerigen Lösung mit den Wasserdämpfen. Es löst Kupferoxyd, Bleioxyd und andere Metalloxyde auf, auch fette Säuren, wie Palmitinsäure, Stearinsäure, Oelsäure sind darin etwas löslich. Erhitzt man trockenes Glycerin mit trockenen, organischen, einbasischen Säuren auf 200° im Glasrohre eingeschlossen oder besser nicht eingeschmolzen (nöthigenfalls am Rückflusskühler) längere Zeit, so verbinden sie sich unter Austritt von Wasser theilweise mit einander. Auf diese Weise können die natürlich vorkommenden Fette künstlich erhalten werden. Beim Schütteln von Glycerin mit Benzoylchlorid und Natronlauge bilden sich in Wasser unlösliche Benzoësäureester des Glycerins.[2])

---

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 17. S. 74.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11. S. 472.

Verdünnte wässerige Lösungen des Glycerins mit Bierhefe längere Zeit bei 20—30° stehen gelassen, geben Zerlegung des Glycerins unter Bildung von Propionsäure. Erhitzt man Glycerin mit wasserfreier Phosphorsäure oder saurem schwefelsauren Kali, so bildet sich durch Zerlegung des Glycerins Wasser und Acroleïn oder Acrol C_2H_4O, eine äusserst stechend riechende, leicht flüchtige und sich an der Luft schnell oxydirende Flüssigkeit, welche auch Silberlösung schnell reducirt. Diese Zersetzungsweise, welche dem Glycerin eigenthümlich ist, dient neben dem Verhalten gegen Basen, neben dem süssen Geschmacke und der grossen Löslichkeit in Wasser oder Alkohol zur Erkennung des Glycerins. Beim Schmelzen mit Aetzalkali bildet das Glycerin zunächst Wasserstoff und Milchsäure, ebenso bei Fäulniss, durch weitere Einwirkung auf die Milchsäure entstehen dann Buttersäure, Essigsäure, Ameisensäure etc.

Fette.

47. Die Fette finden sich bei Menschen und Thieren fast in allen Flüssigkeiten, nur nicht im Harne, in geringer Menge gelöst oder fein zertheilt, wie im Chylus, reichlich besonders in der Milch, dem Hauttalge und dem Chylus bei Fettfütterung. In den Geweben findet sich Ablagerung von Fetten in den Fettzellen physiologisch in bestimmter Verbreitung und pathologisch kann fettige Infiltration jedes Organ betreffen. Die Fette, welche bei diesen letzteren pathologischen Prozessen abgelagert werden, sind keine anderen als die, welche wir im normalen Zustande im panniculus adiposus u. s. w. von Menschen und Thieren und ebenso in den verschiedensten Früchten von Pflanzen finden.

Von den Fetten sind einige flüssig, andere krystallisirt bei gewöhnlicher Temperatur, sie sind nicht unzersetzt flüchtig beim Erhitzen, unlöslich in Wasser, meist auch ziemlich unlöslich in kaltem, leicht löslich in kochendem Weingeiste, alle lösen sich leicht in Aether, Chloroform und flüchtigen Oelen, sie lösen sich auch gegenseitig auf, so stellen die gewöhnlichen Oele, als Olivenöl, eine Lösung von Stearin und Palmitin in Oleïn dar. Die Fette reagiren neutral gegen Lackmus, sind an sich farb- und geschmacklos, lösen viele Farbstoffe auf und erscheinen im thierischen Körper wohl immer gelb gefärbt.

Die natürlich in Thieren vorkommenden Fette sind wie das Glycerin selbst ohne Einwirkung auf polarisirtes Licht. Etwas löslich sind Fette auch in Seifen-, in Eiweiss- oder Leimlösungen und besonders in Flüssigkeiten, welche Gallensäuren enthalten. Schüttelt man flüssige Fette mit schleimigen oder Eiweisslösungen, so gehen sie in feine Zertheilung über, aus welcher sie nur langsam sich wieder zu einer Masse vereinigen (Emulsion). Durch Kochen mit Wasser werden die Fette kaum ange-

griffen, dagegen werden sie durch Kochen mit Aetzalkalilauge besonders in alkoholischer Lösung schnell verseift, d. h. in Glycerin und fette Säuren zerlegt, dieselbe Zerlegung bewirkt concentrirte Schwefelsäure oder Wasserdampf in das auf 220° erhitzte Fett eingeleitet. Beim Stehen der Fette in Berührung mit atmosphärischer Luft, Wasser und Metallen oder Eiweissstoffen werden sie allmälig zerlegt, sie werden ranzig, wie man sagt, indem sich leicht flüchtige fette Säuren bilden. Erhitzt man Fette auf sehr hohe Temperatur, so gehen fette Säuren und Acroleïn über, dessen Nase und Augen stark reizende Dämpfe sich schon in geringen Mengen leicht kenntlich machen.

Die wichtigsten natürlich vorkommenden Fette sind das Stearin, Palmitin und Oleïn.

Stearin oder Tristearin $C_{57}H_{110}O_6$ oder $C_3H_5(C_{18}H_{35}O_2)_3$.

Das Stearin, bestehend aus 3 Atomen Stearinsäure und 1 Atom Glycerin weniger 3 Mol. Wasser, ist das festeste, am Schwersten schmelzbare unter den bekannteren Fetten. Es ist in heissem Alkohol oder Aether schwerer löslich als die übrigen Fette und wird beim Erkalten jener Lösungen zuerst ausgeschieden, gewöhnlich in rectangulären Tafeln, seltener in rhombischen Prismen. Der eigentliche Schmelzpunkt ist 71,5°. Es ist aus thierischen Fetten kaum rein zu erhalten. Das unreine Stearin ist bei 53°—66° schmelzbar. Tristearin ist in kaltem Alkohol sehr wenig, in kochendem Alkohol leicht löslich.

Palmitin oder Tripalmitin $C_{51}H_{98}O_6$ oder $C_3H_5(C_{16}H_{31}O_2)_3$.

Das Palmitin ist wenig löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Alkohol oder Aether. Beim Erkalten der heiss gesättigten Lösung scheiden sich feine Nadeln von Palmitin aus. Ist es mit Stearin gemischt, so scheiden sich aus den heissen Lösungen beim Erkalten Gemische (oder Verbindungen) von Palmitin und Stearin in Kugeln aus, welche aus radial um einen Punkt gestellten Blättchen oder Nadeln, die oft grashalmartig gewunden erscheinen, bestehen. Diese Gemenge hielt man früher für ein besonderes Fett, welches Margarin genannt wurde. Wie das Stearin, so hat auch das Palmitin verschiedene Schmelz- und Erstarrungspunkte, je nachdem es mehr oder weniger rein ist. Der Schmelzpunkt des reinen Tripalmitin ist zu 62° angegeben.

Oleïn (Trioleïn) $C_{57}H_{104}O_6$ oder $C_3H_5(C_{18}H_{33}O_2)_3$.

In reinem Zustande ein farbloses, flüssiges Oel bei gewöhnlicher Temperatur. Es oxydirt sich leicht an feuchter Luft und färbt sich

dabei gelb, ist ziemlich löslich in absolutem Alkohol, leicht löslich in Aether, weniger in kaltem Weingeiste. Das Oleïn löst Stearin und Palmitin reichlich auf und stellt in dieser Mischung die Hauptmasse der natürlichen Fette dar. Bei der trockenen Destillation giebt es ausser den Producten, welche auch andere Fette liefern, noch Sebacylsäure (Fettsäure). Im Vacuum destillirt reines Oleïn unzersetzt.

Butyrin, Capronin, Caprylin und die anderen derartigen Fette sind noch nicht hinreichend untersucht und man hat keine Methode, sie von den übrigen Fetten ohne Zerlegung zu trennen. Trilaurin Schmelzpunkt 45°. Trimyristin Schmelzpunkt 55°.

Trennung der Fette von anderen Körpern und Nachweis derselben.

48. Wegen ihrer Nichtflüchtigkeit, Unlöslichkeit in Wasser, Leichtlöslichkeit in Aether ist es im Ganzen nicht schwierig, die Fette von anderen Stoffen zu trennen.

In Flüssigkeiten suspendirte Fette kann man durch Schütteln der Flüssigkeiten mit Aether aufnehmen, aus Emulsionen, z. B. Milch, erhält man sie auf gleiche Weise, nachdem man der Emulsion etwas Natronlauge zugefügt hat. Die in den Flüssigkeiten gelösten Fette sowie die in Gewebstheilen eingeschlossenen erhält man am Einfachsten, indem man Flüssigkeit oder Gewebe auf dem Wasserbade trocknet, den Rückstand fein pulverisirt, mit Aether auszieht und das Ungelöste noch mit Alkohol auskocht. Das Alkoholextract wird heiss filtrirt, auf dem Wasserbade verdunstet und der Rückstand mit Aether ausgezogen. Die durch Verdunsten der Aetherauszüge erhaltenen Massen können ausser den Fetten noch fette Säuren, Lecithin und Cholesterin enthalten, auch Farbstoffe können sich darin befinden. Um die freien Säuren von den Fetten zu trennen, ist es zweckmässig, den Aetherrückstand mit mässig verdünnter Lösung von kohlensaurem Natron, welches nicht verseifend auf die Fette wirkt, im Scheidetrichter gut zu schütteln, einige Zeit stehen zu lassen; die wässerige Lösung, nochmals mit Aether ausgeschüttelt, enthält dann die vorher freien Säuren als Natriumsalze. Um Cholesterin aus den Fetten abzutrennen, wird ihre Mischung mit alkoholischer Kalilauge einige Zeit auf dem Wasserbade im Sieden erhalten, dann der Alkohol durch Verdunsten verjagt, die rückständige Flüssigkeit mit Wasser sehr verdünnt und mit Aether geschüttelt; das dann abgegossene Aetherextract enthält nur Cholesterin und ein wenig Seife, wenn mit Wasser genügend verdünnt war. Durch Waschen mit wässerigem kalten Alkohol unter Zusatz eines Tropfen Salzsäure kann die letzte Spur der Säure aus dem Rückstand des Aetherauszugs entfernt werden.

Die Seifenlösung wird, ohne den letzten Rest des Aethers zu ent-

fernen, mit verdünnter Schwefelsäure gut angesäuert und nun auf dem Wasserbade bis zum Verdunsten des Aethers erwärmt, die ausgeschiedenen Fettsäuren durch Filtration entfernt, das Filtrat mit Ammoniak neutralisirt, auf dem Wasserbade zu sehr kleinem Volumen eingedampft und mit Alkohol ausgezogen. Das filtrirte Alkoholextract enthält das Glycerin und Spuren von den schwefelsauren Salzen, die man durch Zusammenreiben des Verdampfungs-Rückstandes mit Bleioxyd, Ausziehen der Masse mit etwas Wasser, Fällen mit Schwefelwasserstoff, Filtriren und Eindampfen zum Syrup trennen kann. Das zurückbleibende Glycerin wird durch den Geschmack, Lösung von Kupferoxydhydrat in demselben und die Bildung von Acroleïn beim Erhitzen mit wasserfreier Phosphorsäure charakterisirt.

Die oben durch Fällung mit Schwefelsäure aus der Seifenlösung isolirten fetten Säuren werden nach den §§ 35 und 36 angegebenen Methoden von einander getrennt und näher bestimmt.

Die auf obige Weise dargestellten Aetherextracte enthalten fast immer Lecithin, selten Calcium- oder Magnesiumsalze fetter Säuren (Faeces). Lecithin zersetzt sich beim Trocknen des Rückstandes über 70° und giebt bei der Verseifung mit alkoholischer Kalilauge Glycerinphosphorsäure. Der Phosphorgehalt des Aetherextractrückstandes nach § 24 ermittelt, ergiebt den Gehalt an Lecithin.

Trennung und Nachweis der einzelnen Fette.

49. So wenig man eine genügende Methode besitzt, Cholesterin von den unzersetzten Fetten vollkommen zu trennen, so wenig ist man auch im Stande, eine Trennung der einzelnen Fette von einander vorzunehmen, ohne dass man sie verseift.

Eine für manche Zwecke genügende Trennung erhält man, wenn man die Fette einige Zeit bei einer Temperatur erhält, bei der ein Theil des gelösten Stearin und Palmitin auskrystallisirt, diese Temperatur würde für Butter etwa 20°, für Leberthran, Knochenöl etwa 0° sein, und so für jedes Fett verschieden. Man filtrirt durch Papier das flüssige Oel ab, presst die ausgeschiedenen Krystallmassen aus und lässt nun das Oel bei einer niederen Temperatur stehen, bei welcher wieder ein Theil sich ausscheidet, filtrirt u. s. w. Spült man die ausgepresste Krystallmasse mit kaltem Alkohol ab, so erhält man von Oleïn ziemlich freie Gemische von Stearin und Palmitin, und löst man diese in viel heissem Alkohol und lässt allmälig erkalten, so scheidet sich zuerst Stearin, dann dies mit Palmitin gemischt, zuletzt nur Palmitin mit Spuren von Oleïn aus.

Zur genaueren Untersuchung der Fette auf die in ihnen enthaltenen

Säuren verseift man sie zunächst durch Auflösen in heissem Alkohol. Zusatz starker alkoholischer Kalilauge, Kochen der Mischung 1/2 bis 1 Stunde lang. Der Alkohol wird dann verdampft, der Rückstand in Wasser gelöst, mit verdünnter Schwefelsäure stark angesäuert, die leichter flüchtigen Säuren mit der grösseren Wassermenge abdestillirt, das Destillat nach § 34 untersucht. Der Rückstand im Kolben wird nach dem Erkalten mit Aether geschüttelt, die ätherische Lösung abgegossen, mit verdünnter Natronlage geschüttelt, welche die fetten Säuren aufnimmt, dann die alkalische Lösung mit CO_2 gesättigt und nach § 36 zur Abtrennung der Oelsäure behandelt. Die in Aether unlöslichen Bleiverbindungen werden in heissem Alkohol fein zertheilt, mit SH_2 zerlegt, heiss filtrirt, das Filtrat mit Soda zur Trockne verdampft und der alkoholische Auszug der Natronsalze der fetten Säuren nach § 35 (am Ende) fractionirt gefällt und untersucht.

Schnell ausführbare Methode der Verseifung mit Natriumalkoholat vergl. Kossel u. Obermüller, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14. S. 599. Kossel u. Krüger, ebendas. Bd. 15. S. 321. Obermüller, ebendas. Bd. 16. S. 152.

Glycerinphosphorsäure $C_3H_5(OH)_2PO_4H_2$.

50. Die Glycerinphosphorsäure findet sich in sehr geringer Menge im normalen Harne, kommt im Uebrigen wohl nur als Zersetzungsproduct des Lecithin im Blut, leukaemischen Harn, Transsudaten, Muskeln, Gehirn, Nerven, Eidotter, Eiter u. s. w. vor. Sie ist eine zweibasische Säure, welche auch direct durch Einwirkung wasserfreier Phosphorsäure auf Glycerin gebildet werden kann. Sie ist nur als syrupöse Flüssigkeit, nicht im festen Zustande bekannt und zerlegt sich beim Erwärmen allmälig in Glycerin und Phosphorsäure. Ihre Baryt- und Kalksalze sind unlöslich in absolutem Alkohol, leicht löslich in kaltem Wasser. Das Kalksalz wird in perlglänzenden Blättchen erhalten, wenn die kalt concentrirte Lösung zum Sieden erhitzt wird, auch das Zinksalz krystallisirt gut.

Die Lösung der glycerinphosphorsauren Salze wird durch essigsaures Bleioxyd gefällt.

Um Glycerinphosphorsäure in Flüssigkeiten aufzufinden, dampft man die von Eiweissstoffen befreite, mit Barytwasser alkalisch gemachte, durch Kohlensäure von überschüssigem Baryt befreite und nach Aufkochenlassen abfiltrirte Flüssigkeit auf ein kleines Volumen ein, lässt einige Zeit stehen, um Kreatin und dergleichen sich ausscheiden zu lassen, dampft mit der Luftpumpe über Schwefelsäure die Flüssigkeit möglichst ein, extrahirt mit absolutem Alkohol den Rückstand, löst das

Zurückbleibende in wenig Wasser, filtrirt und prüft nach Verdunsten der Flüssigkeit zur Trockne den Rückstand nach § 24 auf Phosphorsäuregehalt. Statt dessen kann man auch diese letztere Flüssigkeit mit Salzsäure ansäuern, einige Zeit im Kochen erhalten, zur Trockne abdampfen, den Rückstand mit Wasser ausziehen, filtriren und das Filtrat mit ammoniakalischer Magnesialösung auf Phosphorsäure prüfen oder mit molybdänsaurem Ammoniak (vergl. § 17). Das krystallisirte glycerinphosphorsaure Zink ist in seinen mikroskopischen Formen dem milchsauren Zink sehr ähnlich.

Kohlehydrate.

Glucose, Traubenzucker, Harnzucker $C_6H_{12}O_6$ oder $CHO(CHOH)_4CH_2OH$.

51. Unter allen Zuckerarten hat die Glucose bei Menschen und Thieren das ausgebreitetste Vorkommen. Abgesehen vom Darminhalte, in welchem sie je nach der Nahrung in sehr wechselnder Quantität vorhanden sein, zeitweise auch fehlen kann, findet sie sich bei gesunden Thieren häufig in geringer Menge in dem Safte der Leber, in dem Chylus, regelmässig im Blute und der Lymphe. Ebenso findet sich Traubenzucker stets in geringer Menge (im Durchschnitt 0,09 %) im normalen menschlichen Harn[1]). Bei Diabetes beträgt der Gehalt des Harnes an Traubenzucker fast immer mehrere Procente.

Man stellt den Traubenzucker aus dem diabetischen Harne dar, indem man denselben bei mässiger Temperatur auf dem Wasserbade zum dünnen Syrupe abdampft und zur Krystallisation stehen lässt, nach einigen Tagen oder Wochen ist der ganze Syrup krystallisirt. Die körnige Masse wird nun mit wenig Alkohol zerrieben und gewaschen, um den Harnstoff zu entfernen, dann löst man im siedenden Alkohol, filtrirt heiss und lässt zur Krystallisation stehen, die ausgeschiedenen Krystallkörner und Kugeln werden dann noch mehrmals aus heissem Alkohol, nach Soxhlet besser aus Methylalkohol umkrystallisirt. In neuester Zeit ist die Darstellung der Glucose auf synthetischem Wege gelungen[2]).

Der auf die beschriebene Weise erhaltene Zucker (wasserfreier Traubenzucker $C_6H_{12}O_6$) ist völlig farblos, bildet vierseitige Prismen mit schräger oder grader Endfläche; die Krystallflächen sind meist uneben an grösseren Individuen; sie gruppiren sich beim Krystallisiren strahlig zu Kugeln und Knollen. Die Krystalle sind hart, luftbeständig bei gewöhnlicher Temperatur, bei 146° schmelzend. In Wasser lösen sie sich nicht sehr schnell. Die wässerige Lösung kann zur

[1]) Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 19. S. 3218.
Wedenski, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 13. S. 122.

[2]) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 23. S. 799.

Trockne abgedampft werden, ohne dass sich ein Krystall bildet, während eine dünne, syrupöse Lösung binnen einiger Zeit ruhigen Stehens krystallinisch erstarrt und zwar krystallisirt aus concentrirten wässerigen Lösungen bei 30—35° ebenfalls wasserfreier Traubenzucker, aus wässerigen Lösungen in der Kälte dagegen wasserhaltiger ($C_6H_{12}O_6 + H_2O$). Diese Krystalle schnell auf 100° erhitzt schmelzen unter Bräunung, beim sehr langsamen Trocknen wird Wasser ohne Schmelzen ausgetrieben; es bleibt eine weisse undurchsichtige Masse von der Form der Krystalle und diese kann ohne Zerlegung auf 120° und darüber erhitzt werden. Der Traubenzucker ist schwer löslich in kaltem, leicht in heissem Alkohol, langsam aber reichlich in Methylalkohol, unlöslich in Aether. Aus wässerigen Lösungen wird er durch essigsaures Blei nur bei Gegenwart von Ammoniak gefällt.

Aus den kochsalzhaltigen Lösungen des Traubenzuckers scheiden sich beim Stehen grosse sechsseitige Doppelpyramiden oder Rhomboeder aus, welche aus $2\ C_6H_{12}O_6 + NaCl + H_2O$ bestehen und 13,52% NaCl enthalten.

Wie alle Alkohole lässt sich auch die Glucose mit Basen und mit Säuren verbinden. Die Verbindung mit Basen vollzieht sich leicht und schnell schon bei gewöhnlicher Temperatur, so z. B. mit Kali ($C_6H_{11}KO_6$), Natron, Kalk, Baryt ($C_6H_{12}O_6 . BaO$); eine wässerige Lösung von Traubenzucker löst reichlich Aetzkalk auf. Die Verbindungen sind in absolutem Alkohol unlöslich, eine Lösung von Glucose in Methylalkohol wird durch methylalkoholische Barytlösung quantitativ gefällt*); in wässeriger Lösung zersetzen sich die Verbindungen mit Alkalien und Erden bald, schon bei gewöhnlicher Temperatur, unter Bildung von Milchsäure, viel schneller in der Wärme. Mit mässig starker Natronlauge auf 90° erwärmt zersetzt sich der Traubenzucker unter lebhafter Wärmeentwicklung, bei niedriger Temperatur langsamer, in Milchsäure, Brenzkatechin, Ameisensäure und andere unbekannte Stoffe; daneben bilden sich — auch schon beim Stehen alkalischer Traubenzuckerlösungen in der Kälte — braune Zersetzungsprodukte; dabei findet reichliche Absorption von Sauerstoff statt, aber auch bei Luftabschluss tritt geringe Braunfärbung ein. Kohlensaure Alkalien wirken wie Aetzalkalien, nur schwächer.

Der Traubenzucker verbindet sich mit Kupferoxyd. Die Verbindung löst sich leicht in Alkalilauge zu dunkelblauer Flüssigkeit, kann aber als Niederschlag ($C_6H_{12}O_6 . 5\ Cu(OH)_2$) erhalten werden, wenn man zu einer Lösung, die 1 Molek. Traubenzucker enthält (die Lösung muss mindestens 0,5% sein) 5 Molek. Kupfersulfat und 11 Molek. Natron-

*) Scheibler bei Leo, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 107. S. 109.

hydrat fügt. Die nach einiger Zeit (nicht sofort) abfiltrirte Flüssigkeit ist dann zuckerfrei.[1]) Die alkalische Kupferoxydtraubenzuckerlösung ist sehr zersetzlich, schon nach kurzem Kochen scheidet sich ein gelbes oder rothes Pulver, Kupferoxydul, aus, während die Flüssigkeit sich entfärbt (über die quant. Verhältnisse siehe § 252); in der Wärme geht diese Reaction augenblicklich vor sich: der Zucker wird oxydirt, indem sich Ameisensäure, Oxymalonsäure (Tartronsäure), Essigsäure bilden[2]). Ebenso erfährt auch das Wismuthoxydhydrat beim Kochen mit alkalischer Traubenzuckerlösung Reduction zu metallischem Wismuth, auch Gold-, Platin-, Silber-, Quecksilbersalze werden durch dieselbe reducirt, Ferricyankalium in Ferrocyankalium umgewandelt und Indigo zu Indigoweiss reducirt.

In sauren Lösungen ist der Traubenzucker beständig, mit verdünnten Säuren erhitzt liefert er Huminsubstanzen, Ameisensäure, Lävulinsäure[3]) und Furfurol.[4])

Mit den verschiedensten anorganischen und organischen Säuren bildet er unter geeigneten Bedingungen esterartige Verbindungen, unter denen die Benzoësäureester besondere Bedeutung erlangt haben[5]). Schüttelt man Traubenzucker (5 gr in 0,5 proc. Lösung) mit Benzoylchlorid (40 gr) und Natronlauge (300 ccm 10 proc. Lösung) bis zum Verschwinden des Geruches nach Benzoylchlorid, so erhält man in Wasser unlösliche, in Alkohol, Aether, Benzol lösliche Niederschläge, welche Gemenge mehrfach benzoylirter Glucosen darstellen[6]). Er verbindet sich auch mit einer Reihe von aromatischen Aminen. Die Reaktion mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung auf dem Wasserbade verläuft nach der Gleichung $C_6H_{12}O_6 + 2C_6H_5N_2H_3 = C_{18}H_{22}N_4O_4 + 2H_2O + 2H$; das entstandene d-Glucosazon ist in Wasser schwer, in heissem Alkohol leicht löslich, krystallisirt in gelben Nadeln und schmilzt bei 204—205[7]). Der Traubenzucker dreht in wässeriger Lösung die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts u. z. ergiebt sich die specifische Drehung für Lösungen, welche erhitzt waren oder längere Zeit gestanden hatten, aus folgenden Formeln: für den wasserfreien Traubenzucker $(\alpha)_D = 52{,}50^0 + 0{,}018796P + 0{,}00051683P^2$, für den wasser-

[1]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3. S. 79.

[2]) Claus, Ann. Chem. Pharm. Bd. 147. S. 114, Journ. f. prakt. Chem. [2] Bd. 4. S. 63.

[3]) Tollens, Ann. Chem. Pharm. Bd. 206. S. 207, Conrad u. Guthzeit, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 19. S. 2569.

[4]) Emmet, Journ. f. prakt. Chem. Bd. 12. S. 120.

[5]) Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 19. S. 3220.

[6]) Kueny, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14. S. 330.
Skraup, Sitzber. d. k. Akad. d. Wissensch. Wien, Naturw. Klasse Bd. 98. IIb. S. 438.

[7]) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 17. S. 579 u. Bd. 20. S. 821.

haltigen $(\alpha)_D = 47,73^0 + 0,015534\,P + 0,0003883\,P^2$, wobei P den Procentgehalt der Lösung an Traubenzucker bezeichnet.[1])

Darnach ist die specifische Drehung sehr verdünnter Lösungen am Geringsten, sie nimmt allmälig zu, ist bei 10procentigen Lösungen 52,74 resp. 47,92 und bei 100procentigen Lösungen 59,5 resp. 53,17.

Der in kaltem Wasser gelöste, krystallisirte Traubenzucker besitzt gleich nach dem Auflösen eine höhere Rechtsdrehung, die sich beim Stehen allmälig, schnell beim Erhitzen vermindert, bis sie schliesslich constant wird (Birotation).

Mit Bierhefe in Berührung geht der Traubenzucker in wässeriger Lösung, wenn die Temperatur zwischen 10—40° beträgt, sofort die alkoholische Gährung ein. Das Schema $C_6H_{12}O_6 = 2(C_2H_6O) + 2(CO)_2$ drückt den Process der Zerspaltung aus, welchen der Traubenzucker hauptsächlich erleidet. Die Gährung geht am Besten bei etwa 34° vor sich[2]). Die Gährung zerlegt nur dann den ganzen vorhandenen Zucker, wenn die Lösung nicht über 15% davon enthält, da in concentrirteren Lösungen der gebildete Alkohol die Gährung endlich inhibirt. Durch zahlreiche Bakterien wird der Traubenzucker in Milchsäure übergeführt, solche Bakterien finden sich regelmässig in saurer Milch, Käse. Diese Gährung verläuft langsamer als die alkoholische.

Durch concentr. Salpetersäure in der Wärme wird die Glucose in Zuckersäure und Oxalsäure übergeführt.

Nachweis der Glucose und Trennung derselben von anderen Körpern.

52. Um in einer Flüssigkeit Zucker aufzusuchen, hat man stets zunächst die Eiweissstoffe, wenn sie vorhanden sind, daraus zu entfernen. Ist die Flüssigkeit alkalisch oder neutral, so fügt man zu diesem Zwecke Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction hinzu, erhitzt zum Kochen und filtrirt. Eiweissreiche Flüssigkeiten wie Blut mischt man besser mit dem drei- bis vierfachen Volumen starken Alkohol, lässt einige Zeit stehen, ohne zu erwärmen, filtrirt dann ab. Harn befreit man besser nach dem ersteren Verfahren von Eiweissstoffen. Das Alkoholextract, welches man nach dem zweiten Verfahren erhält, verdunstet man auf dem Wasserbade zur völligen Entfernung des Alkohol, und wenn sich noch Eiweissstoffe ausgeschieden haben, extrahirt man nochmals den Rückstand mit viel Alkohol, filtrirt, verdunstet den Alkohol und löst

---

[1]) Tollens, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 17. S. 2238 u. Handbuch der Kohlehydr. S. 44.

[2]) Jodlbauer, Zeitschr. d. Vereins f. Rübenzuckerindustrie 1888 S. 309.

den Rückstand in wenig Wasser. Mit diesen so erhaltenen eiweissfreien Flüssigkeiten macht man die folgenden Proben:

1) Man untersucht dieselben im Polarisationsapparate, ob sie eine Rechtsdrehung besitzen, welche unverkennbar sein wird, wenn die Flüssigkeit nicht etwa nur Spuren von Traubenzucker enthält.

Für den Harn: Ist der Harn trübe oder dunkelgefärbt, so schüttelt man ihn mit etwas pulverisirtem neutralen Bleiacetat und benutzt das Filtrat zur Polarisation.

2) Bringt man in eine mit Quecksilber gefüllte und umgekehrt in ein Gefäss mit Quecksilber gestülpte Glasröhre mittelst einer Pipette mit krummem Schnabel eine Traubenzucker enthaltende neutrale oder schwach saure Flüssigkeit, mit ein wenig Hefe versetzt und lässt bei gewöhnlicher Zimmertemperatur stehen, so zeigt sich bald Gasentwickelung (Kohlensäure), die bis 2 Tage währt. Lässt man dann zu dieser Flüssigkeit etwas concentrirte Kalilauge aufsteigen, so wird das entwickelte Gas fast vollständig wieder absorbirt. Es ist zu bemerken, dass Hefe auch in vollständig zuckerfreien Lösungen geringe Mengen von Gas liefern kann.

Mit Harn stellt man die Probe ganz in derselben Weise an.

3) Moore's Probe: Man versetzt eine Probe der zu untersuchenden Flüssigkeit im Probirglase mit Aetzkali- oder Aetznatronlauge bis zur stark alkalischen Reaction und erhitzt allmälig das Gemisch zum Sieden. Ist Zucker vorhanden, so wird die Flüssigkeit erst gelb, dann braunroth, endlich dunkelbraun bis schwarz gefärbt. Ist wenig Zucker vorhanden, so tritt nur gelbe oder röthliche Farbe ein.

Für den Harn nur deutlich bei heller Farbe des Harns resp. bei reichem Zuckergehalt.

4) Trommer's Probe: Eine andere Probe versetzt man mit überschüssiger Kali- oder Natronlauge und fügt dann unter gutem Umschütteln so lange tropfenweise eine verdünnte Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd hinzu, als der entstehende Niederschlag sich in der Flüssigkeit wieder auflöst. Man erhitzt dann allmälig bis zum Sieden. Enthält die Flüssigkeit Traubenzucker, so löst sie reichlich Kupferoxydhydrat zur dunkelblauen Flüssigkeit und es scheidet sich beim Kochen reichlich der gelbe oder rothe Niederschlag von Kupferoxydul aus. Ist mehr Zucker in der Flüssigkeit, als das zugefügte Kupferoxyd zu oxydiren vermag, so wirkt die freie Aetzalkalilauge auf den übrigen Zucker ein und die Flüssigkeit färbt sich allmälig nach dem Sieden gelb bis braunroth. Hat man dagegen mehr Kupferoxyd hinzugefügt, als der Zucker zu reduciren vermag, so scheidet sich beim Kochen auch schwarzes Kupferoxyd aus und dies verdeckt dann leicht das gleichzeitig ausge-

schiedene Kupferoxydul. Man hat sich deshalb wohl in Acht zu nehmen vor zu grossem Ueberschuss der Kupferlösung, während Aetzalkali in grossem Ueberschusse angewendet der Reaction keinen Eintrag thut. Verschiedene organische Stoffe verlangsamen oder verhindern die Abscheidung des bei dieser Reaction sich bildenden Kupferoxyduls; ziemlich reichlich finden sich solche Körper im normalen menschlichen Harne, in viel geringerer Menge im diabetischen Harne. Wenn nun die Veränderung der Farbe, aber keine Oxydulabscheidung zu bemerken ist, erkennt man die geringsten Spuren des gebildeten Oxydul, wenn man im Probirglase auf die gekochte und etwas erkaltete Flüssigkeit verdünnte Salzsäure vorsichtig darauf schichtet. Der obere Theil der Flüssigkeit wird hierbei übersättigt und an der Grenze der Flüssigkeiten zeigt sich ein sehr feiner weisser bis gelber oder röthlicher Niederschlag, der sich dann allmälig zu Boden senkt.

Mittelst der Trommer'schen Probe kann der Zucker in 1 ccm einer 0,0025procentigen wässerigen Lösung noch nachgewiesen werden, doch gilt diese Schärfe nur für sehr günstige Verhältnisse.

Für den Harn stellt man die Probe in der oben angegebenen Weise an: reichliches Lösungsvermögen für Kupfersulfat und das Auftreten eines deutlichen gelben oder rothen Niederschlags beim Erwärmen sind für Zucker charakteristisch. Da jeder normale Harn Stoffe enthält, welche Kupferoxyd in Lösung halten und reduciren und solche, welche das Kupferoxydul am Ausfallen verhindern, so kann die Probe in manchen Fällen besonders bei geringem Zuckergehalt zweifelhaft bleiben. Um sie nun auch bei solchen zweifelhaften Fällen möglichst empfindlich und für Traubenzucker beweisend zu machen, wird sie nach den umfassenden Untersuchungen von Worm-Müller*) am Besten in folgender Weise angestellt: In einem Reagenzglas werden 5 ccm filtrirter Harn, in einem andern 1 ccm 2,5 % Kupfersulfatlösung und 2,5 ccm alkalischer Seignettesalzlösung (auf 100 ccm 4 % NaOH 10 gr weinsaures Kalinatron) erhitzt. 20—25 Sekunden nach Unterbrechung des Kochens giesst man den Inhalt beider Reagenzgläser zusammen ohne zu schütteln und beobachtet nun, ob sofort oder nach einigen Minuten eine bei auffallendem Licht schmutzig gelbgrüne Färbung entsteht, welche von fein vertheiltem Kupferoxydul herrührt. Erhält man keine Ausscheidung mit 1 ccm, so muss man die Probe mit 2, 2,5 u. s. w. ccm wiederholen, bis entweder Ausscheidung erfolgt oder die Flüssigkeit nicht mehr entfärbt wird.

5) Barfoed's Probe: Kocht man Traubenzuckerlösungen mit einer schwachen Lösung von essigsaurem Kupfer, der etwas Essigsäure zugesetzt ist, so scheidet sich Kupferoxydul ab.

6) Boettcher's Probe: Man fügt zu einer Portion der zu prüfenden Flüssigkeit eine Messerspitze voll Wismuthoxyd oder basisch salpetersaures Wismuthoxyd, alsdann einige Messerspitzen Soda, erhitzt nun zum Sieden und erhält einige Zeit im Sieden. Enthält die Flüssig-

*) Arch f. d. ges. Physiol. Bd. 27 S. 112.

keit Traubenzucker, so färbt sich der Niederschlag bald grau, endlich schwarz, durch Reduction des Wismuthoxydes. Sind nur Spuren von Zucker zu vermuthen, so ist auch weniger Wismuthoxyd zur Probe zu verwenden, als wenn reichlicher Gehalt anzunehmen ist.

Für den Harn, speciell bei geringem Zuckergehalt desselben, ist die Ausführung der Probe nach der Modifikation von Almén-Nylander[1]) empfohlen worden: Die Reaktionsflüssigkeit (dargestellt durch Zusammenbringen von 100 gr 5,2 % NaOH, 4 gr Seignettesalz und 2 gr Bism. subnitr. und Abfiltriren der Flüssigkeit von ungelöstem Wismuthsalz) wird zum Harn im Verhältniss von 1 : 10 gesetzt und darauf die Mischung einige Minuten gekocht; es entsteht ein schwarzer Niederschlag.[2])

7) Rubner's Probe[3]). Versetzt man Traubenzuckerlösungen mit einer grösseren Menge gepulverten Bleiacetats, kocht einige Zeit, träufelt dann in die siedende Lösung Ammoniak, bis eben ein dauernder Niederschlag entsteht, so färbt sich fast unmittelbar die ganze Lösung gelb und je nach der Concentration dann roth; es setzt sich ein ebenso gefärbter flockiger Niederschlag ab, der aber bald in eine an Bleioxyd erinnernde gelbe Farbe übergeht.

Für die Ausführung dieser Probe im Harn ist hinzuzufügen, dass man auf 10 ccm Harn 3 gr Bleiacetat nimmt, von dem reichlich entstehenden Niederschlag abfiltrirt und mit dem Filtrat die Probe ausführt. Concentrirte Harne müssen zunächst mit dem gleichen Volumen Wasser verdünnt werden.

8) Phenylhydrazinprobe von E. Fischer[4]). Versetzt man eine wässerige Traubenzuckerlösung mit einigen Tropfen Phenylhydrazin und ebensoviel Tropfen 50procentiger Essigsäure und erwärmt auf dem Wasserbad, so scheiden sich allmälig gelbe Nadeln von d-Glucosazon ab.

Für den Harn wird die Probe nach der Vorschrift von v. Jaksch-Hirschl[5]) ausgeführt: 10 ccm Harn werden in einem Reagenzglas mit 2 Messerspitzen salzsaurem Phenylhydrazin und 3 Messerspitzen essigsaurem Natrium (statt dessen einfacher mit gleicher Tropfenzahl von Phenylhydrazin und 50 % Essigsäure) versetzt und eine Stunde im Wasserbad erwärmt. Nach dem Herausnehmen lässt man mehrere Stunden stehen und untersucht den Niederschlag mikroskopisch. Das Glukosazon bildet gelbe einzelne oder in Drusen angeordnete Nadeln vom Schmelzpunkt 204—205°.

9) Furfurolreaktion von Molisch[6]) u. v. Udránszky[7]). Versetzt man einen Tropfen der Traubenzuckerlösung in einem Reagenzglas mit

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 8 S. 175.

[2]) Nach Eingabe von Rheum tritt die Reaktion auch in zuckerfreien Harnen auf (Salkowski, Centrbl. f. d. med. Wissensch. 1885 No. 25).

[3]) Zeitschr. f. Biolog. Bd. 20 S. 397.

[4]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 17 S. 579 und Bd. 22 S. 90 Anm.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14 S. 377.

[6]) Sitzber. der k. Akad. d. Wissensch. Bd. 93 II. S. 912.

[7]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 355 u. 377.

1 Tropfen einer 10 procentigen Lösung von α-Naphtol in acetonfreiem Methylalkohol und genau 1/2 ccm Wasser, lässt dann vorsichtig unter das Gemisch genau 1 ccm. reine conc. Schwefelsäure fliessen und schüttelt nun um, so tritt violette bis himbeerrothe Farbe auf. Der entstandene Farbstoff zeigt Spektralerscheinungen.

Um im Harn[1]) die Probe anzustellen, verdünnt man denselben zunächst auf das Zehnfache mit Wasser. Die oben angegebenen Mengen müssen genau eingehalten werden; es ist ferner darauf zu achten, dass die Reagenzgläser vollständig rein und frei von Papier, Staub, Baumwollfasern sind, und ebenso, dass die Reagentien ganz rein sind. Beim Zusammenbringen von 1 Tropfen α-Naphtollösung, 1/2 ccm Wasser und 1 ccm der zu benutzenden conc. Schwefelsäure darf nach dem Umschütteln die grüngelbe oder gelbe Farbe keinen röthlichen oder violetten Schimmer annehmen.

10) Reaction von G. Hoppe-Seyler[2]) zum Nachweis von Zucker im Harn. 5 cc (1 Theelöffel) des Reagens (0,5 procentige Lösung von O-Nitrophenylpropiolsäure in Natronlauge und Wasser) werden mit etwa 10 Tropfen des zu untersuchenden Harns versetzt, dann etwa 1/4 Minute gekocht. Wird die Lösung dunkelblau (Indigo), so sind reducirende Substanzen mindestens = 0,5 pCt. Zucker vorhanden. Normaler Harn gibt erst bei Zusatz von mindestens 1 cc Grünfärbung, eine deutliche Blaufärbung ist auch bei grösseren Mengen gewöhnlich nicht zu erzielen. Gehalt des Harns an Eiweiss schadet nicht.

Was nun die Beweiskraft der einzelnen Proben betrifft, so kann die Furfurolreaktion, welche eine allgemeine Kohlehydrat- und Eiweissreaktion ist, keine Entscheidung über die Anwesenheit von Traubenzucker geben, ebensowenig die Trommer'sche Probe, denn es giebt eine ganze Reihe anderer Stoffe, welche ebenfalls Kupferoxyd reduziren. Die Barfoed'sche Probe geben Maltose und Milchzucker nicht, die Rubner'sche gibt Milchzucker nicht. Die Rechtsdrehung schützt nicht vor der Verwechselung mit Maltose, Galactose, Dextrin, die Gährfähigkeit nicht vor der Verwechselung mit Maltose, Fructose (Laevulose). Dasselbe Glucosazon wie Traubenzucker gibt auch Fructose. Die Glukosazone anderer Zuckerarten geben ähnliche mikroskopische Bilder, unterscheiden sich aber im Schmelzpunkt. Zuweilen ist der sichere Nachweis der Anwesenheit der Glucose nur durch Identifizirung der isolirten Krystalle zu führen.

Beim Harn handelt es sich in der Regel nur darum zu entscheiden, ob derselbe als diabetisch zu bezeichnen ist oder nicht. Bei reichlichem

---

1) Siehe auch Luther, Inaug.-Dissert. Freiburg 1890.
Roos, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15 S. 513.
Treupel, ebendas. Bd. 16 S. 47.

2) Ebendas. Bd. 17 S. 83.

Zuckergehalt wird jede der Proben ein unzweideutiges Resultat geben, bei geringem Gehalt kann der Ausfall mancher Proben wohl gelegentlich im Ungewissen lassen. In Bezug auf die Worm-Müller'sche und Nylander'sche Reaktion ist zu bemerken, dass sie zuweilen, auch mit normalem Harn angestellt, positiv ausfallen und zwar dann, wenn der normale Kohlehydratgehalt des Harns sich seinem physiologischen Maximum nähert. Es ist Sache der Uebung bei diesen beiden Reaktionen, ebenso wie bei der Trommer'schen, aus der Grösse und Art des Niederschlags zu beurtheilen, ob ein Harn von pathologischem Zuckergehalt ist. Ueber den Werth der Phenylhydrazinprobe bei geringem Zuckergehalt sind die Ansichten getheilt, nach Roos[1]) erhält man aus jedem normalen Harn dem Glukosazone wenigstens sehr ähnliche Krystalle. Die Furfurolreaktion stellt sehr hohe Ansprüche an die Reinheit der Gläser und Reagentien und die Sorgfalt des Untersuchers, dürfte sich deshalb nicht für Jedermann eignen. Die sicherste Traubenzuckerprobe ist unzweifelhaft die Gährprobe: sie ist weder so empfindlich, dass sich in das Bereich des Normalen fallender Zuckergehalt durch sie zu erkennen gibt, noch gestattet sie Verwechselung mit irgend einem anderen normalen oder pathologischen Harnbestandtheil[2]); sie fällt auch negativ aus, wenn der Harn — wie in manchen Fällen von Milchstauung bei Wöchnerinnen — Milchzucker enthält, während die auf Reduktion beruhenden Proben, ebenso wie die polarimetrische Probe in solchen Fällen ein positives Resultat geben können. Die Reaction von G. Hoppe-Seyler hat ebenfalls den grossen Vortheil, dass sie erst bei pathologischem Zuckergehalt eintritt, ausserdem verlangt sie nur ein einziges und zwar gut haltbares Reagens und ist bei Eiweissgehalt ausführbar. Eine Unterscheidung von Milch- und Traubenzucker mit ihr ist allerdings auch nicht möglich. Für diese Unterscheidung eignet sich auch die Rubner'sche Probe.

53. Zur Abscheidung der Glucose aus wässerigen Flüssigkeiten kann man sich mit Vortheil der Fällbarkeit derselben durch essigsaures Bleioxyd und Ammoniak bedienen. Zertheilt man den Niederschlag in Alkohol und leitet Schwefelwasserstoff hindurch, filtrirt und dampft zum Syrupe ab, so erhält man den Zucker von einem grossen Theile anderer Stoffe getrennt. Löst man den Rückstand in absolutem Alkohol und fügt alkoholische Kalilösung hinzu, so lange ein

[1]) a. a. O.

[2]) Mit einziger Ausnahme von Fructose und ähnlichen Kohlehydraten, welche aber durch ihre optischen Eigenschaften leicht zu unterscheiden sind. Ueber ihr äusserst seltenes Vorkommen im Harn siehe folgendes Kapitel.

Niederschlag entsteht, so erhält man Traubenzucker-Kali als in Alkohol unlöslichen Niederschlag. Man filtrirt, löst den Niederschlag in wenig Wasser, leitet schnell Kohlensäure bis zur Sättigung des Kali hindurch, fällt die Lösung mit viel absolutem Alkohol, filtrirt, verdunstet bei möglichst niedriger Temperatur zum Syrupe und lässt einige Wochen zur Krystallisation stehen. Diese Darstellung des Traubenzuckers führt nur dann zu einem guten Resultate, wenn man den Zucker nur sehr kurze Zeit mit dem Kali in Verbindung lässt, also schnell Kohlensäure einleitet und mit Alkohol fällt; ganz entgeht der Zucker trotz aller Geschwindigkeit und auch bei niedriger Temperatur der Zersetzung durch das Kali nicht.

Ferner kann man nach Baumann Glucose aus wässerigen Lösungen als Benzoësäureester abscheiden, wenn man mit Benzoylchlorid und Natronlauge in den oben angeführten Verhältnissen bis zum Verschwinden des Geruchs nach Benzoylchlorid schüttelt. Aus dem Estergemenge lässt sich der Traubenzucker durch Verseifen mit Natriumäthylat gewinnen.[1])

Linksdrehende Zucker.

Leo'scher Zucker $C_6H_{12}O_6$ wurde von Leo[2]) aus einigen (3) diabetischen Harnen dargestellt. Vom gleichzeitig vorhandenen Traubenzucker lässt er sich durch Ausfällen der methylalkoholischen Lösung mit methylalkoholischer Barytlösung trennen, durch welche der Leo'sche Zucker nicht niedergeschlagen wird.

Er stellt einen nicht süss, sondern scharf und salzartig schmeckenden, nicht krystallisirenden Syrup dar, welcher in Wasser leicht, in Methylalkohol weniger leicht, in Aether, Chloroform unlöslich ist; er wird durch Bleiessig nur bei Gegenwart von Ammoniak gefällt. Mit Phenylhydrazin giebt er nur eine ölige Verbindung. Er löst Kupferoxyd in alkalischer Lösung (es entsteht dabei aber keine lazurblaue Färbung) und reducirt dasselbe, nachdem einige Sekunden gekocht ist. Das Reduktionsvermögen beträgt nur 0,4024 von dem des Traubenzuckers; er dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach links und zwar ist $(\alpha)_D = -26.07°$. Mit Hefe gährt er nicht.

Zucker von der Formel $C_6H_{12}O_6$ (Fructose?) wurde von Külz[3]) aus dem Harn einer an Diabetes intermittens leidenden Frau isolirt. Er stellt einen süss schmeckenden Syrup dar, reducirt alkalische Kupferlösung, bildet ein Osazon, welches nach Zusammensetzung, Eigenschaften und Schmelzpunkt d-Glucosazon ist, ist linksdrehend und vergährt langsam mit Hefe. Er stimmt im Allgemeinen also mit der Fructose überein, unterscheidet sich von dieser aber dadurch, dass er durch Bleiessig gefällt wird.

---

[1]) Kueny, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14 S. 341.
[2]) Leo, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 107 S. 99.
[3]) Zeitschr. f. Biol. Bd. 27 S. 228.

Galactose $C_6H_{12}O_6$.

54. Galactose findet sich als solche nicht im Organismus, sie entsteht beim Erhitzen von Milchzucker und von Cerebrin[1]) mit verdünnten Säuren, im ersteren Fall neben Glucose; sie lässt sich auch aus zahlreichen Gummiarten und Schleimstoffen des Pflanzenreichs durch Spaltung mit Säuren erhalten[2]).

Zu ihrer Darstellung kocht man Milchzucker mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure[3]).

Sie krystallisirt in zu Warzen vereinigten Nadeln oder Blättchen, die bei 168° schmelzen, ist in Wasser schwerer löslich als Glucose; sie reducirt alkalische Kupferoxydlösung und zwar etwas schwächer als Glucose (1 ccm unverdünnter Fehling'scher Lösung (§ 252) entspricht nach Soxhlet[4]) 0,00511 gr Galactose in 1proc. Lösung). Mit Phenylhydrazin bildet sie ein bei 193° schmelzendes Osazon[5]), mit Benzoylchlorid 5fach benzoylirte Galactose[6]), bei der Oxydation mit Salpetersäure Schleimsäure. Mit Hefe soll sie gähren[7]) (die Galactose aus Cerebrin gährt nicht); sie zeigt rechtsseitige Circumpolarisation und zwar ist $(\alpha)_D = 83.883^0 + 0.0785\,P - 0.209\,.\,t$, wobei P Prozentgehalt und t Temperatur bedeutet[8]).

Maltose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$.

55. Aus Amylum und Glycogen entsteht durch Einwirkung diastatischer Fermente, sowie durch Kochen mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure Maltose; dieselbe wird durch weitere Einwirkung der Fermente langsam in Glucose übergeführt, durch Kochen mit verdünnten Säuren geht diese Umwandlung viel schneller vor sich, wenn auch erheblich langsamer als die Invertirung des Rohrzuckers. Die beste Ausbeute erhält man bei 3stündigem Kochen von Maltose mit 3procent. Schwefelsäure, indem aus 100 gr wasserhaltiger Maltose 98,3 — 98,9 gr wasserfreie Glucose entstehen[9]). Die Maltose bildet feine weisse zu Warzen vereinigte Nadeln, ist leicht löslich in Wasser, auch ziemlich leicht löslich

---

1) Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14 S. 209.

2) Müntz, Compt. rend. T. 102 p. 624 u. 681.
v. Lippmann, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 20 S. 1001, hier auch weitere Literaturangaben.

3) Kent u. Tollens, Ann. Chem. Pharm. Bd. 227 S. 221.

4) Journ. f. prakt. Chemie N. F. Bd. 21 S. 271.

5) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 20. S. 826.

6) Skraup, Monatsh. f. Chemie. Bd. 10 S. 389.

7) Tollens u. Stone, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 21 S. 1572.

8) Meissl, Journ. f. prakt. Chemie. N. F. Bd. 22 S. 97.

9) Meissl, Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 25 S. 126.

in Alkohol, und wird aus der alkoholischen Lösung durch Aether in weissen nadelförmigen Krystallen ausgefällt, während zugleich vorhandene Glucose gelöst bleibt (über die Darstellung der Maltose siehe Herzfeld, Ann. Chem. Pharm. Bd. 220. S. 209).

Durch Einwirkung von Alkalien entsteht Milchsäure, durch Einwirkung von Säuren Laevulinsäure und Furfurol, ebenso wie aus Glucose.

Sie reducirt Kupferoxyd in alkalischer Lösung, aber schwächer als Traubenzucker und zwar wird 1 ccm unverdünnte Fehling'sche Lösung (§ 252) bei 4 Min. langem Sieden reducirt von 7,78 mgr wasserfreier Maltose in annähernd 1 procent. Lösung[1]), sie reducirt essigsaures Kupferoxyd (Barfoed's Reagens) nicht, während Glucose dasselbe reducirt.

Die Maltose verbindet sich mit Phenylhydrazin in essigsaurer Lösung bei $1^1/_2$ stünd. Erwärmen auf dem Wasserbad zu Phenylmaltosazon $C_{24}H_{32}N_4O_9$, das sich beim Erkalten in gelben, nicht zu Aggregaten vereinigten Nadeln abscheidet und bei 206° unter Zersetzung schmilzt.[2])

Mit Benzoylchlorid und Natronlauge liefert sie 5fach und 6fach benzoylirte Maltose[3])

Bei der Oxydation entsteht Glukonsäure resp. Zuckersäure, durch vorsichtige Oxydation mit Brom Maltobionsäure, welche beim Erwärmen mit verdünnter Schwefelsäure in Glucose und Gluconsäure zerfällt[4]). Die Maltose giebt in wässeriger Lösung mit Hefe direct alkoholische Gährung, das specif. Rotationsvermögen ist nach Meissl veränderlich, wird mit steigender Conc ntration der Lösung, ebenso mit steigender Temperatur geringer und lässt sich im Allgemeinen ausdrücken durch die Formel $(\alpha)_D = +140{,}375^0 - 0{,}01837\,P - 0{,}095\,T$, in welcher P den Prozentgehalt an wasserfreier Maltose und T die Temperatur bezeichnet. Bei Anwendung einer 200 mm langen Beobachtungsröhre giebt, bei 17,5° und einem Gehalt zwischen 5 und 40 gr Maltose in 100 ccm Lösung, die Anzahl der abgelesenen Grade der Rotation multiplicirt mit 0,362 den Gehalt an wasserfreier Maltose in gr für 100 ccm Lösung und zwar bis auf ± 0,05 genau. Kalt frisch bereitete, wässerige Maltoselösungen steigern allmälig beim Stehen ihr Drehungsvermögen, bis sie nach 10 bis 12 Stunden, sofort beim Erhitzen, die obige Grösse erreicht haben.

---

1) Soxhlet, Ebendas. Bd. 21 S. 285.

2) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 17 S. 583 u. Bd. 20. S. 830.

3) Skraup, Sitzungsber. d. k. Akad. d. Wissensch. Wien. Naturw. Klasse. Bd. 98, IIb. S. 438.

Kueny, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 14 S. 349.

4) E. Fischer u. Meyer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 22 S. 1941.

Milchzucker, Lactose $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$.

56. Der Milchzucker ist bis jetzt allein in der Milch des Menschen und der Säugethiere aufgefunden und ist der einzige Zucker, der in diesem Sekret nachgewiesen ist; aus der Milchdrüse stammend, erscheint er bei Milchstauung in kleiner Menge auch im Harn von Frauen und weiblichen Thieren.

Man stellt ihn aus der Kuhmilch durch Ansäuern derselben mit Essigsäure bis zur Gerinnung des Caseïn oder Ausscheiden des Caseïn durch Lab, Coliren durch ein leinenes Tuch, Erhitzen des Filtrats zum Kochen, Abfiltriren des coagulirten Albumin, Abdampfen der Molken zur Krystallisation, Abgiessen der Mutterlauge von den in einigen Tagen beim Stehen ausgeschiedenen Krystallen dar. Man reinigt ihn durch Umkrystallisiren aus der warmen wässerigen Lösung.

Der Milchzucker bildet farblose, harte, glänzende, oft ziemlich grosse Krystalle, welche zum rhombischen Systeme gehören und sehr ausgeprägt hemiedrisch sind (achtseitige Prismen mit stärkerer Ausbildung von 4 Seiten gegen ihre benachbarten schmaleren, schräge Endfläche unten und oben am Prisma).

Der Milchzucker löst sich in 6 Theilen kaltem und $2\frac{1}{2}$ Theilen kochendem Wasser, ist unlöslich in absolutem Alkohol oder Aether. Seine wässerige Lösung hat einen schwach süssen Geschmack, reagirt neutral. Vorsichtig allmälig auf 150° erhitzt verliert er sein Krystallwasser ohne wesentliche weitere Zersetzung. Wird eine wässerige Lösung von Milchzucker in einem Metallgefäss schnell eingekocht, so erstarrt fast plötzlich die ganze Lösung zu einer porösen, nur aus kleinen wasserfreien Krystallen bestehenden Masse. Dieser krystallisirte wasserfreie Milchzucker löst sich leichter als der wasserhaltige oder trocken entwässerte in kaltem Wasser.

Wässerige Lösungen über 100° erhitzt färben sich braun. Mit Basen verbindet sich der Milchzucker zu amorphen Körpern, alkalische Lösungen zersetzen sich ebenso wie alkalische Traubenzuckerlösungen schon bei gewöhnlicher Temperatur allmälig, schneller beim Erhitzen, gleichfalls unter Braunfärbung und Bildung von Milchsäure und Brenzkatechin. Milchzucker löst auch Kupferoxyd in alkalischer Lösung und reducirt dasselbe zu Oxydul und zwar wird 1 ccm Fehling'scher Lösung (§ 252) (gleichgültig ob verdünnt oder nicht) bei 6 Minuten langem Kochen von 6,76 mgr Milchzucker (in 0,5—1,5 procent. Lösung) reducirt*). Ebenso reducirt Milchzucker Wismuthoxyd, Silberoxyd und Indigo in alkalischer Lösung, nicht aber das Barfoed'sche Reagens. In saurer Lösung in

*) Soxhlet, Journ. f. prakt. Chem. Bd. 21. S. 261.

der Kälte und bei gelindem Erwärmen ist der Milchzucker beständig, wird er aber mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure längere Zeit gekocht, so zerfällt er in Glucose und Galactose; bei stärkerer Einwirkung von Säuren entstehen Ameisensäure, Laevulinsäure, Huminsubstanzen, Furfurol. Schüttelt man eine wässerige Lösung von Milchzucker mit Benzoylchlorid und Natronlauge, so scheidet sich ein Gemenge von 6 und 7 resp. 8fach benzoylirter Lactose ab[1]), erwärmt man sie auf dem Wasserbade mit Phenylhydrazin und Essigsäure, so bildet sich Lactosazon, welches beim Erkalten in gelben zu kugeligen Aggregaten vereinigten Nadeln (Schmelzpunkt 200°) sich abscheidet und in heissem Wasser ziemlich leicht löslich ist[2]).

Durch Hefe wird in Milchzuckerlösungen erst nach längerem Stehen ganz unvollkommene Alkoholgährung, durch verschiedene Arten von Bakterien, welche in saurer Milch und in Käse sich finden, bei Gegenwart von Kreide oder Zinkoxyd sehr schnell Milchsäuregährung hervorgerufen (vergl. § 40).

Bei der Oxydation mit Salpetersäure entstehen Schleimsäure, Zuckersäure, weiterhin Weinsäure, Traubensäure, Oxalsäure u. s. w., bei vorsichtiger Oxydation mit Brom bei gewöhnlicher Temperatur erhält man Lactobionsäure $C_{12}H_{22}O_{12}$, welche beim Kochen mit Säuren in Gluconsäure und Galactose zerfällt.[3])

Der krystallwasserhaltige Milchzucker zeigt in heissem Wasser gelöst die spezifische Drehung $(\alpha)_D = +52{,}4$[4]) (Milchzucker aus menschlicher Milch) und $(\alpha)_D = +52{,}53$[5]) (Milchzucker aus Kuhmilch) bei 20° und berechnet für $C_{12}H_{22}O_{11} + H_2O$. Diese spezifische Drehung ist constant bei verschiedener Concentration der Lösung bis zur Concentration 36 gr. in 100 ccm. Flüssigkeit, ändert sich aber mit der Temperatur in der Weise, dass in der Nähe von 20° die spezifische Drehung mit Erhöhung der Temperatur abnimmt und zwar ungefähr um $0{,}055 \,.\, (\alpha)_D$, wenn die Aenderung der Ausdehnung der Flüssigkeit etc. durch die Wärme berücksichtigt wird. Frisch bereitet dreht die Lösung stärker als nach dem Stehen resp. Aufkochen. Der krystallisirte wasserfreie Milchzucker hat frisch in Wasser gelöst geringe rechtsseitige Drehung, die beim Stehen zunimmt, verhält sich also umgekehrt, wie der wasser-

---

1) Skraup, Monatsh. f. Chemie. Bd. 10. S. 389.
Kueny, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 14. S. 349.

2) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 17. S. 583 u. Bd. 20. S. 830.

3) E. Fischer u. Meyer, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 22 S. 361.

4) Makris, Studien über die Eiweisskörper der Frauen- und Kuhmilch. Dissert. Strassburg 1876.

5) Schmöger, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 13 S. 1922.

haltige.[1]) Schmöger beschreibt noch eine zweite Modification des wasserfreien Milchzuckers, welche man erhält, wenn man nicht mehr als 7 ccm einer 10 procentigen Lösung eindampft, und welche nur ganz schwache Birotation, vielleicht constante Drehung zeigt.[2])

Durch essigsaures Bleioxyd und Ammoniak wird Milchzucker aus seinen wässerigen Lösungen ebenso wie Traubenzucker völlig ausgefällt, während er durch Kochen mit neutralem essigsauren Bleioxyd weder gefällt noch verändert wird.

Trennung und Nachweis des Milchzuckers.

57. Hat man aus Flüssigkeiten durch etwas Essigsäure und Kochen die Eiweissstoffe coagulirt und filtrirt, so kann man in denselben zunächst durch die Trommer'sche oder die Boettcher'sche Probe (vergl. § 52, 4. 6.) das Vorhandensein oder Fehlen von Zucker constatiren. Ist Zucker vorhanden, so dampft man die Flüssigkeit bei mässiger Temperatur im Wasserbade auf ein sehr kleines Volumen ein, versetzt dann mit einem Ueberschusse von Weingeist, erhitzt zum Kochen, filtrirt, verdunstet bei mässiger Temperatur auf ein kleines Volumen und lässt den dünnen Syrup einige Tage bis Wochen zur Krystallisation stehen.

Die wässerige Lösung dieser Krystalle resp. direkt die von Eiweiss befreite Flüssigkeit muss sich in folgender Weise verhalten, falls es sich um Milchzucker handelt:

1) Sämmtliche auf Reduktion beruhenden, beim Traubenzucker besprochenen Reaktionen, mit Ausnahme der Barfoed'schen, ebenso die Furfurolreaktion müssen positiv ausfallen.

2) Die Flüssigkeit muss rechtsseitige Circumpolarisation zeigen und diese Rechtsdrehung muss stärker sein, wenn man die Lösung mit verdünnter Salzsäure $1/2$ Stunde lang kocht und wieder auf das frühere Volumen bringt.

3) Sie darf nicht sofort, muss aber nach einstündigem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure und Neutralisation mit $CaCO_3$ auf Zusatz von Bierhefe alkoholische Gährung zeigen.

4) Sie muss mit Salpetersäure oxydirt Schleimsäure liefern. Die Darstellung gelingt noch mit ziemlich kleinen Quantitäten Milchzucker, am Besten in der von Kent u. Tollens[3]) beschriebenen Weise.

5) Sie muss mit Phenylhydrazin und Essigsäure behandelt ein Osazon vom richtigen Schmelzpunkt geben.

---

[1]) Erdmann, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 13 S. 2180.

[2]) Schmöger, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 14 S. 2121 u. Bd. 25 S. 1455.

[3]) Annal. Chem. Pharm. Bd. 227 S. 224.

6) Sie muss mit viel Bleizucker 3—4 Min. gekocht sich gelb bis bräunlich, auf Zusatz von Ammoniak, so lange sich der Niederschlag noch löst, sich ziegelroth färben und weiterhin einen kirschrothen bis kupferfarbenen Niederschlag absetzen (Rubner's Probe.)[1])

Harne über 1020 sp. Gew. werden zunächst verdünnt mit dem gleichen Volumen Wasser; im Uebrigen wird die Rubner'sche Probe in derselben Weise ausgeführt, wie bei Traubenzucker beschrieben. (§ 52, 7.)

Zur Isolirung des Milchzuckers aus Harn dient das Verfahren von Hofmeister.[2])

Glycogen $(C_6 H_{10} O_5)n$.

58. In den Lebern von gut genährten Fleisch- und Pflanzenfressern, wie es scheint bei allen Wirbelthieren, findet sich Glycogen reichlich, so lange sie sich wohl befinden. Herz und Muskeln enthalten im frischen Zustande stets Glycogen, dasselbe findet sich in allen thierischen entwickelungsfähigen Zellen, normalen wie pathologischen, farblosen Blutkörperchen, der Embryoanlage des Hühnchen, den Chorionzotten, Papillomgeschwülsten u. s. w. Es findet sich nur in geringer Menge oder fehlt ganz in den Lebern kranker Thiere.

Besonders reichlich fand G. Bizio[3]) Glycogen in verschiedenen Muscheln, besonders Ostrea edulis, Cardium edule. Ferner ist es in Pflanzen mehrfach nachgewiesen, besonders in vielen Pilzen.

Unterschiede im Verhalten und in der Zusammensetzung des aus Muskeln oder Leber oder andern Organen dargestellten Glycogen haben sich nicht nachweisen lassen. Das Glycogen ist eine amorphe, farb- und geschmacklose Substanz von der Zusammensetzung $5 (C_6 H_{10} O_5) + H_2 O$ oder $6 (C_6 H_{10} O_5) + H_2 O$ (bei 100° getrocknet). Die wässerige Lösung zeigt eine starke weisse Opaleszenz; die wässerige Lösung wird durch Alkohol gefällt; wenn jedoch das Glycogen ganz aschefrei ist, erst nach Zusatz einer Spur von Chlornatrium oder essigsaurem Alkali; sie wird ferner gefällt durch Aetzbarytlösung und zwar entsteht bei unvollständiger Ausfällung ein Niederschlag von der Formel $5 (C_6 H_{10} O_5) Ba (OH)_2$, bei vollständiger Ausfällung wechselt die Menge des Baryt im Niederschlag mit der Concentration des Barytwassers bis zu einem maximalen Gehalt, welcher der Formel $5 (C_6 H_{10} O_5) 2 Ba (OH)_2$ entspricht[4]). Die Niederschläge lösen sich in reinem Wasser und werden durch Kohlensäure in Glycogen und Baryum-

---

[1]) Zeitschr. f. Biolog. Bd. 20 S. 397.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 1 S. 105.

[3]) Atti dell' Istituto veneto di scienze etc. Vol. XI Ser. 3. 1866.

[4]) O. Nasse, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 37 S. 582.

carbonat zerlegt; ferner entstehen Niederschläge mit Gerbsäure, Bleiessig, schwefelsaurem Kupferoxydammoniak, Eisenchlorid. Bleizucker bewirkt nur Trübung; leitet man Schwefelwasserstoff durch die Lösung, so bleibt das Schwefelblei (wie in Lösungen von Eiweissstoffen oder Leim) suspendirt, fällt aber auf Zusatz von Aetznatron nieder. In concentrirten Lösungen rufen starke Essigsäure, Propionsäure, Buttersäure Niederschläge hervor, die aber beim Erwärmen sich lösen, also jedenfalls keine Verbindungen darstellen; auch beim Schütteln von Glycogenlösung mit Benzoylchlorid und Natronlauge fällt ein weisses, körniges Pulver aus, das aus benzoylirtem Glycogen besteht[1]). Kupferoxydhydrat wird durch Glycogen in alkalischer Lösung aufgelöst, aber auch beim Kochen nicht reducirt.

Durch Jod wird es roth bis violett gefärbt; diese Reaction wird durch Zusatz von Kochsalz, Chlorammonium oder anderen Salzen verstärkt, man benutzt deshalb am Besten eine mit Kochsalz gesättigte Jodjodkalilösung (Nasse). Beim Erhitzen von Glycogen mit Kalilauge auf dem Wasserbad wird dasselbe nicht zersetzt; beim Kochen mit verdünnter Salz- oder Schwefelsäure wandelt es sich zunächst in Dextrin, dann in Maltose, schliesslich in Glucose um. Dieselbe Umwandlung erleidet es durch Speichel, Pancreassaft, Lebersubstanz u. s. w.; eine fast vollständige Ueberführung in Glucose erzielt man durch dreistündiges Kochen mit 10procent. Salzsäure (spec. Gewicht 1,125) und zwar der 10 bis 100fachen Menge von dem Gewicht des Glycogen in lebhaft kochendem Wasserbad am Rückflusskühler[2]). Durch Einwirkung von Brom und Wasser auf Glycogen entsteht eine Säure $C_6H_{12}O_7$, welche von Chittenden[3]) Glycogensäure genannt wurde, die aber offenbar mit der Gluconsäure identisch ist. Durch kalte concentrirte Salpetersäure wird es in Xyloidin umgewandelt, mit schwacher Salpetersäure gekocht giebt es Oxalsäure.

Das Glycogen zeigt in wässeriger Lösung sehr starke rechtsseitige Circumpolarisation, die mit wünschenswerther Genauigkeit sich schwer bestimmen lässt wegen der starken Lichtdispersion, welche die Glycogenlösungen zeigen. Böhm u. Hoffmann bestimmten sie zu $(\alpha)_j = +226{,}7^0$, Külz[4]) zu $+211^0$, Landwehr[5]) zu $(\alpha)_D = +213{,}3^0$, Cramer[6]) zu

[1]) Wedenski, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 13 S. 125.
Kueny, Ebendas. Bd. 14 S. 352.

[2]) Sachse, Chem. Centralbl. 1877 S. 733.
Külz, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 24 S. 35.

[3]) American. Journ. of sc. and arts XI. Mai 1876.

[4]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 24 S. 35.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 8 S. 170.

[6]) Zeitschr. f. Biolog. Bd. 24 S. 100.

$(\alpha)_D = + 200{,}2^0$. Külz fand sie unabhängig von der Concentration der Lösungen, auch unbeeinflusst durch Zusatz von Salzsäure, Kali- oder Natronlauge, Jodquecksilberkalium in der Kälte.

Um das Glycogen nachzuweisen, kann man sich der Jodreaction bedienen, soweit nicht Verwechselung mit Amyloïd zu befürchten ist. Da das letztere in Wasser nicht löslich ist und durch obige Fermente oder Kochen mit Säuren nicht in Zucker umgewandelt wird, so ist es leicht beide Körper gut von einander zu unterscheiden. Da aber das Glycogen an den Orten, wo es abgelagert ist, gewöhnlich zugleich Ferment vorfindet zu seiner Umwandlung in Traubenzucker, so müssen die Untersuchungen auf Glycogen in Organen oder Flüssigkeiten so schnell als möglich begonnen oder durch Zusatz von Alkohol bis zur Fällung die Einwirkung des Ferments unmöglich gemacht werden. Werden glycogenhaltige Flüssigkeiten mit Barytwasser gefällt, so wird mindestens ein Theil des Glycogen mit ausgefällt.

Zur Gewinnung des Glycogen aus Leber, Muskeln u. s. w. sowie zur quantitativen Bestimmung desselben eignet sich nach den Untersuchungen von R. Külz[1]) am Besten das Verfahren von Brücke[2]) mit Verwendung von Aetzkali. Man verfährt nach Külz in folgender Weise: Möglichst schnell nach dem Tode des Thieres wird das in grobe Stücke zerschnittene Organ in kochendes Wasser geworfen (auf 100 gr Organe etwa 400 gr Wasser) und $^1/_2$ Stunde gekocht; dann zerschneidet, zerdrückt und zerreibt man die Stücke möglichst fein, bringt Kalihydrat (auf 100 gr Organe 3—4 gr) in die Flüssigkeit, erwärmt auf dem Wasserbad und lässt soweit eindampfen, bis das Volumen (bei Anwendung von 100 gr Substanz) noch etwa 200 cc beträgt, die Kalilauge also höchstens zweiprocentig ist. Ist noch nicht Alles gelöst, oder hat sich auf der Oberfläche eine Haut gebildet, so wird der Inhalt der Schale in ein Becherglas übergeführt und in diesem bei aufgelegtem Uhrglas weiter erhitzt, bis die vollständige Lösung aller Stücke und eventuell jener Haut erfolgt ist. Es genügt bei Leber meist ein 2—3stündiges, bei Muskeln ein 4—8stündiges Erhitzen mit Kalilauge. Die Lösung wird nach dem Erkalten mit Salzsäure neutralisirt und dann durch abwechselnden Zusatz von Salzsäure und Quecksilberjodidjodkalium von Eiweiss befreit. Der voluminöse Quecksilberniederschlag wird auf ein Filter gebracht, nachdem Alles abgetropft ist, vom Filter heruntergenommen, in einer Schale mit Wasser, dem einige Tropfen Salzsäure und Quecksilberjodidjodkalium zugesetzt sind, zu einem dünnen Brei angerührt und wieder auf das

1) Zeitschr. f. Biolog. Bd. 22 S. 161.
2) Sitzungsber. d. Wiener Akad. Bd. 53 II. 3. Febr. 1871.

Filter gegossen. Viermaliges Wiederholen dieser Prozedur ist genügend. Das Filtat wird unter Umrühren mit dem doppelten Volumen Alkohol versetzt und nach 12stündigem Kochen filtrirt. Der Niederschlag wird in wenig warmem Wasser gelöst, nach dem Erkalten nochmals mit einigen Tropfen Salzsäure und Quecksilberjodidjodkalium versetzt, um etwaige kleine Reste von Eiweiss vollständig zu entfernen, filtrirt und das Filtrat wieder mit Alkohol unter Umrühren gefällt. Das auf einem gewogenen Filter gesammelte Glycogen wird erst mit Alkohol, dann mit Aether, schliesslich nochmals mit absolutem Alkohol gewaschen und dann sofort im Exsiccator über Schwefelsäure, event. bei 100° getrocknet und gewogen. Durch das schliessliche Waschen mit Alkohol wird das Glycogen als feines weisses Pulver erhalten, welches sich leicht vom Filter schütten lässt.

Achrooglycogen. Aus dem Mucin, welches durch Extraction der Schnecken mit Wasser, Filtration und Fällung mit Essigsäure dargestellt war, hat Landwehr[1]) durch Behandeln mit verdünnter Kalilauge, Abscheidung der Eiweissstoffe mittelst Jodquecksilberkalium, Filtration und Fällung mit Alkohol einen Körper erhalten, den er Achrooglycogen genannt hat, weil er mit dem Glycogen in den Reaktionen im Uebrigen übereinstimmt, aber durch Jod nicht gefärbt wird. Eine Analyse dieses Körpers, den übrigens Hammarsten[2]) nicht auffinden konnte, liegt nicht vor.

Paraglycogen. Unter diesem Namen beschreibt Bütschli[3]) einen dem Glycogen verwandten Körper, aus dem die Körner aus dem Entoplasma der Gregarinen bestehen. Diese Körner färben sich mit Jod braunroth bis braunviolett und lösen sich in heissem Wasser zu einer meist opalescirenden Flüssigkeit. Dieselbe färbt sich mit Jod weinroth bis purpurroth. Durch Behandeln mit Speichel wird der Körper rasch verändert, so dass die Jodreaktion verschwindet, jedoch nicht oder höchstens spurenweise in reducirenden Zucker übergeführt. Durch mehrstündiges Kochen mit verdünnter Schwefelsäure gelingt die Ueberführung in reducirenden Zucker gewöhnlich leicht. Ein in dem Verhalten gegen Jod entsprechender Körper kommt nach Bütschli auch in dem Leibe anderer Protozoën (Nyctotherus ovalis, Strombidium) in ansehnlicher Menge vor.

Von Schmiedeberg[4]) wurde aus der Substanz der Wohnröhren von Onuphis tubicola durch 24stündiges Erhitzen mit Wasser auf 120—130° ein dextrin- oder glycogenartiges Spaltungsprodukt erhalten, welches in Wasser löslich ist, durch Alkohol in Flocken, die sich gummiartig zusammenballen, gefällt und getrocknet leicht als gelbliches Pulver erhalten wird. Diese Substanz reducirt Kupferoxyd nicht in alkalischer Lösung, wohl aber nach dem Kochen mit Säuren, und wird durch Jod nicht gefärbt. Durch Kalilösung wird es schwer angegriffen.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 75.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 36 S. 383.

[3]) Zeitschr. f. Biolog. Bd. 21 S. 603.

[4]) Mitthlg. aus der zool. Station zu Neapel. 1882. S. 373.

Tunicin $C_6H_{10}O_5$.

Im Mantel der Ascidien ist von C. Schmidt eine Substanz aufgefunden, die gegen starke Säuren und Alkalien sich auch beim Kochen sehr resistent erweist und die Zusammensetzung der Cellulose $C_6H_{10}O_5$ besitzt. Dieselbe färbt sich mit Jod und Schwefelsäure blau, wird von Kupferoxydammoniaklösung gelöst, von rauchender Salpetersäure in eine explosive Salpetersäureverbindung übergeführt, ähnlich der Schiessbaumwolle, und giebt beim Zusammenreiben mit concentrirter Schwefelsäure und Eintragen der Masse in das 100 fache Volumen Wasser eine Lösung, welche Zucker enthält, Kupferoxyd in alkalischer Lösung löst und beim Erwärmen reducirt und in wässeriger Lösung mit Hefe CO_2 und Alkohol liefert. Berthelot[1]) gab ihr den Namen Tunicin, Schäfer[2]) glaubt sie als Cellulose ansehen zu dürfen, Berthelot[3]) hält dagegen an der Ansicht fest, dass sie eine von Cellulose verschiedene Substanz sei.

Nach Halliburton[4]) besteht die schleimige Umhüllung, welche die Colonien oder Stöcke des Protozoon, Ophrydium versatile umgiebt, aus Cellulose.

Ambronn[5]) fand bei fast allen Gliedern der Arthropodengruppe einen Körper, der sich mit Chlorzinkjod intensiv violett färbte und zwar nahmen die innere Schicht des Körpers und die Sehnen diese Färbung an; unter den andern grösseren Thierklassen beobachtete er die Reaktion nur noch bei den Mollusken und auch hier nur in wenigen Fällen. Er schliesst aus diesem Verhalten, dass es sich um einen Stoff handelt, welcher der pflanzlichen Cellulose jedenfalls sehr nahe steht, wahrscheinlich mit ihr identisch ist.

Freund[6]) fand Cellulose in reichlicher Menge im Blut und Organen von Phthisikern.

Dextrine $(C_6H_{10}O_5)n$.

59. Bei der Spaltung von Amylum, Glycogen mit verdünnten Säuren oder diastatischen Fermenten bilden sich in Wasser in jedem Verhältniss lösliche, in stärkstem Alkohol unlösliche Körper, welche in concentrirter Lösung in Wasser dick gummiartige Beschaffenheit zeigen, beim Erhitzen mit Alkalien sich gelb und braun färben, nicht krystallisiren. Sie stehen dem Amylum und Glycogen in den Eigenschaften sehr nahe; man unterschied nach ihrem Verhalten zu Jod Erythrodextrin und Achroodextrin; doch sind erstere nach Musculus und Meyer[7]) nur Gemenge von löslicher Stärke (Amylodextrin) und Achroodextrin. Die bei der Einwirkung von Malzdiastase auf Amylum bei 50—60° entstehenden Dextrine sind mit Hefe nicht vergährbar, haben das specifische Rotationsvermögen $(\alpha)_D = + 194{,}8^0$ und werden durch weitere Ein-

---

1) Ann. chim. phys. 1859. T. 56 p. 149.
2) Ann. Chem. Pharm. Bd. 160. S. 312.
3) Ber. d. deutsch. chem. Ges. 1872. S. 587.
4) Quart. J. Mic. Science. July 1885.
5) Mittheil. aus d. zool. Stat. zu Neapel. 1890. Bd. 9 S. 475.
6) Wien. Med. Jahrb. 1886. S. 335.
7) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 451.

wirkung des diastatischen Ferments in Maltose übergeführt, aber nicht vollständig, entsprechend der Gleichung $10C_{12}H_{20}O_{10} + 8H_2O = 8C_{12}H_{22}O_{11} + 2C_{12}H_{20}O_{10}$. Unter gewissen Bedingungen findet sich ausser der Maltose und den Dextrinen noch ein dritter Körper Maltodextrin (Herzfeld), welcher in Alkohol löslicher ist als die Dextrine, Kupferoxyd reducirt, das specifische Drehungsvermögen $(\alpha)_D = + 174,5^0$ zeigt und vollständig in Maltose übergeht[1]). Durch Säuren werden die Dextrine ebenfalls in Maltose resp. Glucose übergeführt.

Musculus und Meyer[2]) erhielten ein Dextrin von der specif. Drehung $+ 131 - 134^0$, nicht gährungsfähig, von Diastase nicht angreifbar, aber beim Kochen mit Säuren in Glucose übergehend, als sie trockene reine Glucose in concentrirter Schwefelsäure gelöst mit absolutem Alkohol fällten und auswuschen; die Zusammensetzung wurde zu $C_{18}H_{28}O_{14}$ gefunden.

Nach Scheibler und Mittelmeier[3]) reduciren reine Dextrine (durch Alkoholfällung resp. Dialyse gereinigtes Handelsdextrin) alkalische Kupferlösung beim Erwärmen. Dextrin löst sich allmälig in Phenylhydrazin auf und wird durch Alkohol als rein weisses Dextrinphenylhydrazin (mit 1 pCt. Stickstoff) abgeschieden. Diese Verbindung verhält sich gegen Lösungsmittel wie Dextrin, wird durch Speichel und Diastase saccharificirt. Auf dem Wasserbad mit Phenylhydrazin und Essigsäure behandelt, verwandelt sie (resp. Dextrin selbst) sich, wenigstens zum Theil, in Osazon, welches in Wasser löslich ist und durch Alkohol als hellgelbgefärbter Niederschlag erhalten wird. Durch Reduction mit Natriumamalgam entsteht aus dem Dextrin ein Alkohol, von Scheibler und Mittelmeier Dextrit genannt, und durch Einwirkung von Brom in der Kälte eine Säure.

Thierisches Gummi $(C_6H_{10}O_5)n$.

60. Unter diesem Namen beschreibt Landwehr[4]) ein Kohlehydrat von der Zusammensetzung $C_{12}H_{20}O_{10} + 2H_2O$ (über Schwefelsäure getrocknet) resp. $C_{12}H_{20}O_{10}$ (bei 100^0 getrocknet), welches er als Spaltungsproduct aus Submaxillarismucin und Metalbumin erhielt; in freiem Zustande kommt es nach Landwehr[5]) normaler Weise im Harn vor. Es ist getrocknet weiss mehlartig, zieht leicht Wasser an und wird dann

1) Brown u. Morris, Ann. Chem. Pharm. Bd. 231 S. 72.
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 122.
3) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 23 S. 3060.
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 8 S. 122.
Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 39 S. 193 u. Bd. 40 S. 21.
5) Centralbl. f. d. mediz. Wissensch. 1885. S. 369.

gummiartig durchsichtig; es löst sich in Wasser zu einer meist opalescirenden Flüssigkeit, ist in Alkohol und Aether unlöslich, wird von Jod nicht gefärbt, durch Speichel-, Pancreas-, Diastase-Ferment nicht angegriffen. Die wässerige Lösung ist schwach rechtsdrehend, die alkalische Lösung löst Kupferoxyd mit hellblauer Farbe, beim Kochen scheiden sich bläulich weisse Flocken ab (charakteristische Reaktion). Mit verdünnten Säuren gekocht, liefert es einen nicht krystallisirenden Körper, welcher Kupferoxyd reducirt, schwach süss schmeckt, nicht gährungsfähig ist. Beim längeren Kochen mit verdünnten Säuren entsteht Laevulinsäure, bei der Oxydation mit Salpetersäure Oxalsäure.

Zur Darstellung kochte Landwehr die zerhackten Submaxillardrüsen resp. Metalbumin mehrere Stunden mit Wasser im Papin'schen Topf, filtrirte, entfernte nach Möglichkeit die Eiweissstoffe (durch Essigsäure und Eisenchlorid oder durch Aufkochen der mit Natriumsulfat gesättigten Lösung unter Zusatz von etwas Schwefelsäure) und fällte dann das Gummi als Kupfer- oder Eisenverbindung aus durch Zusatz von Kupfersulfat und Natronlauge oder Eisenchlorid und kohlensauren Kalk. Den die Kohlenhydrateisen resp. -kupferverbindung enthaltenden Niederschlag zerlegte er mit starker Salzsäure und fällte mit Alkohol. Mit dem thierischen Gummi jedenfalls identische Substanzen wurden von Loebisch[1]) aus dem Sehnenmucin und von Hammarsten[2]) aus dem Mantel- und Fussmucin von Helix pomatia abgespalten.

Die übrigen zahlreichen Angaben von Landwehr in Betreff des Vorkommens von thierischem Gummi bedürfen noch der Bestätigung.

Die von Ritthausen[3]) aus der Milch und die von Schützenberger[4]) aus Abkochungen von Milchdrüsen erhaltenen Kohlehydrate stellen nach Landwehr thierisches Gummi dar; ebenso glaubt er, dass die von Pouchet[5]) aus phthisischen Lungen und Sputum dargestellte Substanz und die von Thudichum[6]) aus dem Harn isolirte Kryptophansäure (siehe § 199), ebenso wie die Nephrozymase von Béchamp[7]) aus mit stickstoffhaltigen Substanzen verunreinigtem thierischen Gummi bestehen.

Thierisches Dextran.

Unter diesem Namen beschreibt L. Liebermann[8]) einen gummiartigen Körper, den er aus dem wässrigen Auszug der Exkremente einer Blattlaus (Schi-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 71.
[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 36 S. 402.
[3]) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 15 S. 329.
[4]) Gaz. méd. de Paris 1879 Nr. 2.
[5]) Compt. rend. 1883. p. 1506 u. 1601.
[6]) Centralbl. f. d. mediz. Wissensch. 1870. S. 195.
[7]) Compt. rend. T. 60 p. 445, T. 92 p. 1009.
[8]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 40 S. 454.

zoneura lanuginosa) durch Fällen mit Alkohol erhielt. Die Substanz, deren Analyse keine scharfen Zahlen gab (am Besten passt sie zu der Formel $C_6 H_{10} O_5$) verhält sich ganz wie Gummi, ist in kaltem Wasser schwer löslich, dreht stark rechts $(\alpha)D = + 156{,}7$; nach längerem Kochen mit Säuren reducirt sie alkalische Kupferoxydlösung.

Thierisches Sinistrin $2 (C_{12} H_{20} O_{10}) + H_2 O$

nennt Hammarsten[1]) ein Kohlehydrat, welches bei der Zersetzung des Glykoproteid der Eiweissdrüse von Helix pomatia (siehe § 193) mit 5—10 % Kalilauge in der Kälte sich abspaltet und mit Hülfe der Brücke'schen oder Landwehr'schen Methode (siehe oben) isolirt werden kann. Es löst sich leicht in Wasser zu einer schwach bläulich weiss opalescirenden Flüssigkeit, welche linksdrehend ist, durch Jod nicht gefärbt und durch Speichel nicht angegriffen wird. Beim Erhitzen mit Säure wird das Sinistrin in einen süss schmeckenden Zucker übergeführt, welcher Fehling'sche Lösung reducirt, gährungsfähig ist und ziemlich stark rechtsdreht; krystallisirt wurde derselbe nicht erhalten.

Glucuronsäure CHO (CHOH)$_4$ COOH.

61. Die einbasische Glucuronsäure wurde in reinem Zustande zuerst von Schmiedeberg und H. Meyer[2]) aus Camphoglucuronsäure, die im Harn nach Eingabe von Campher auftritt, dann von von Mering[3]) aus Urochloralsäure (Trichloraethylalcoholglucuronsäure) und Urobutylchloralsäure, welche nach Aufnahme von Chloral- resp. Butylchloralhydrat im Harn erscheinen, durch Erhitzen mit verdünnten Säuren gewonnen. Aus den Untersuchungen von Schmiedeberg[4]) geht hervor, dass Glucuronsäure in dem Chondrosin, einem Zersetzungsprodukt der Chondroitinschwefelsäure (siehe § 194) enthalten ist. E. Fischer u. Piloty[5]) gelang die synthetische Darstellung der Glucuronsäure durch Reduktion der Zuckerlactonsäure mit Natriumamalgam in saurer Lösung. Am Besten eignet sich zur Darstellung der Glucuronsäure die Euxanthinsäure[6]) (Euxanthonglucuronsäure), welche beim einstündigen Erhitzen mit Wasser auf 120° in Euxanthon und Glucuronsäure zerfällt; aus der vom unlöslichen Euxanthon abfiltrirten Flüssigkeit scheiden sich nach entsprechender Concentration grosse, glänzende harte Krystalle ab, welche das Lacton der Glucuronsäure darstellen. Dasselbe schmilzt, langsam erhitzt,

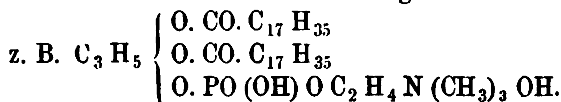
1) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 36 S. 442.
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3 S. 422.
3) Ebendas. Bd. 6 S. 480.
4) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. 28 S. 355.
5) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 24 S. 521.
6) Spiegel, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 15 S. 1964.
Külz, Zeitschr. f. Biolog. Bd. 23 S. 475.
Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 11 S. 388. Bd. 13 S. 275. Bd. 15 S. 71.

zwischen 160 und 170° unter Zersetzung. Die freie Säure ist syrupförmig; sie bildet gut krystallisirende Alkalisalze, ferner ein ebenfalls krystallisirendes Bleisalz, sie wird durch basisches Bleiacetat gefällt, ebenso durch Barytwasser in Ueberschuss: dabei entsteht ein charakteristischer feinflockiger Niederschlag des basischen Barytsalzes. Sie zersetzt sich leicht in alkalischen Lösungen, besonders beim Erwärmen unter Bildung von Brenzkatechin, beim anhaltenden Kochen mit Barythydrat entstehen zwei Säuren, vielleicht Tri- und Dioxyglutarsäure[1]). In sauren Lösungen ist sie beständiger, sie giebt sämmtliche für Glucose charakteristische Reduktionsproben, ferner die Furfurolreaktion; sie gibt mit Phenylhydrazin beim Erwärmen auf dem Wasserbad in essigsaurer Lösung eine in Form mikroskopischer, gelber Nadeln krystallisirende Verbindung, mit Benzoylchlorid und Natronlauge geschüttelt einen Niederschlag, der aus zweifach benzoylirter Glucuronsäure besteht. Beim Erwärmen von Glucuronsäure mit Phloroglucin-Salzsäure tritt Rothfärbung ein (Tollens). Sie gährt nicht mit Hefe, sie ist rechtsdrehend und zwar beträgt für 8—14procentige Lösungen des Lacton bei 18° $(\alpha)_D = +19{,}25$. Mit der Verdünnung und mit ansteigender Wärme nimmt die specifische Drehung zu. Bei der Oxydation mit Brom entsteht aus der Glucuronsäure Zuckersäure, bei der Reduktion mit Natriumamalgam d-Gulonsäure.

Stickstoffhaltige organische Substanzen.

Lecithin $C_{44}H_{90}NPO_9$ [2])

62. Lecithin hat sich in allen darauf untersuchten Organen von Thieren, auch in Pflanzen ganz verbreitet gefunden. Aus Blut, Transsudaten, Galle ist gleichfalls Lecithin gewonnen. Es krystallisirt sehr schwierig aus concentrirtalkoholischer Lösung beim längeren Stehen unter 0°. Aus den Spaltungen ergiebt sich seine Zusammensetzung[3]) als eine Esterverbindung des Glycerin mit 2 Gruppen fetter Säure (Oelsäure, Stearin- oder Palmitinsäure) und Phosphorsäure, während die Phosphorsäure andererseits in Esterverbindung mit Cholin sich befindet,



$$\text{z. B. } C_3H_5 \begin{cases} O.\,CO.\,C_{17}H_{35} \\ O.\,CO.\,C_{17}H_{35} \\ O.\,PO\,(OH)\,O\,C_2H_4N\,(CH_3)_3\,OH. \end{cases}$$

---

1) Schmiedeberg a. a. O.

2) Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuchungen. Berlin 1867. Heft 2.

3) Diaconow, med. chem. Untersuchungen, herausgegeb. von Hoppe-Seyler 1867. Heft 2 u. 1868. Heft 3. Centralbl. f. d. med. Wiss. 1868. No. 1, 7 u. 28.
Strecker, Ann. Chem. Pharm. 1868. Bd. 148 S. 77.
Hundeshagen, Journ. f. pract. Chem. Bd. 28 S. 219.
Gilson, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 585.

Aus Eidotter erhält man Lecithin zwar mit grossem Verluste, aber ziemlich rein nach folgendem Verfahren: Die vom Eiweiss getrennten Dotter werden mit Portionen Aether ausgeschüttelt, so lange der Aether noch deutlich gelbe Farbe annimmt, der Rückstand wird mit starkem Alkohol zusammengerührt, auf 50—60° eine halbe Stunde erhitzt, abfiltrirt, das Filtrat auf dem Wasserbade bei dieser Temperatur zum dicken Syrup verdunstet, derselbe mit Aether mehrfach extrahirt, die abgegossenen Auszüge hinterlassen nach Abdestilliren des Aethers das Lecithin. Man kann dasselbe zur Reinigung nach Altmann in Chloroform lösen und aus genügend concentrirter Lösung durch Aceton ausfällen.

Nach Gilson wird aus dem ätherischen Auszuge des Eidotters Lecithin gewonnen durch Abdestilliren des Aethers, Lösung des Rückstandes in Petroläther, Filtration und Mischen des Petrolätherextracts mit 75procentigem Alkohol im Scheidetrichter. Nach gutem Zusammenschütteln wird zur Klärung stehen gelassen, die alkoholische Lösung abgelassen, die Petrolätherlösung im Scheidetrichter noch mehrmals mit 75procentigem Alkohol behandelt. Die vereinigten alkoholischen Auszüge werden filtrirt, durch Destillation der Rest von Petroläther entfernt, die rückständige Flüssigkeit mehrere Tage am kühlen Ort stehen gelassen, von einem Niederschlag, der Cholesterin und andere Verunreinigungen enthalten kann, abgegossen und mit Knochenkohle entfärbt, dann bei 50 bis 60° eingedampft zum Syrup. Es wird nochmals in Aether gelöst, filtrirt und verdunstet. Spuren von Cholesterin können noch abgeschieden werden durch Lösen des Lecithin in möglichst wenig absolutem Alkohol und Stehenlassen bei einer Temperatur von — 5—15°.

Lecithin bildet eine knetbare wachsartige Masse, leicht löslich in Alkohol, weniger leicht doch immer noch reichlich in Aether; von Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, fetten Oelen, wird es gelöst. In Wasser quillt es zur kleisterartigen Masse auf, unter dem Mikroskope schleimig-ölige Fäden. Beim Erwärmen über 70° bräunt es sich, langsam auch beim Stehen der feuchten Masse während längerer Zeit an der Luft; hierbei tritt saure Reaktion ein.

Durch Einwirkung verdünnter Säuren, auch Schwefelsäure, wird Lecithin nur sehr langsam zersetzt; selbst 10procentige Schwefelsäure zerlegt es nur allmälig unter Bildung von Glycerinphosphorsäure, Phosphorsäure, Cholin. Aetzalkalien verseifen Lecithin schnell selbst bei ziemlich starker Verdünnung beim Erwärmen, Natriumalalkoholat schon in der Kälte, auch beim Kochen mit starker Aetzbarytlösung wird es schnell vollkommen zersetzt, es bilden sich neben Cholin glycerinphosphorsaures Barium, welches in Lösung bleibt, und stearinsaures (palmitinsaures, ölsaures) Barium, welches ausfällt. Bei der Fäulniss entstehen aus dem Lecithin gleichfalls

Cholin und Glycerinphosphorsäure zunächst, das Cholin zersetzt sich dann allmälig weiter zu Trimethylamin und wahrscheinlich verschiedenen Ptomainen je nach Sauerstoffzutritt und anderweitigen Verhältnissen.

Strecker hat salzsaures Lecithin und die Platinchloridverbindung desselben dargestellt, indem er Eidotter mit einer Mischung von Aether und Alkohol behandelte, die wenig Fett löste, einen Theil des Aethers durch Abdestilliren entfernte, dann kalt mit salzsäurehaltigem Platinchlorid fällte. Der weisse flockige Niederschlag wurde zur Reinigung mehrmals in Aether gelöst und mit Alkohol gefällt, dann in der ätherischen Lösung durch SH_2 das Platin abgeschieden und das Filtrat bei mässiger Wärme verdunstet. Diese Darstellung liefert keine reine Substanz.

Im Eidotter und ebenso in verschiedenen Organen von Menschen, Thieren, Pflanzen, finden sich mehrere Lecithine nebeneinander, die sich durch Bildung von Stearinsäure, Palmitinsäure, Oelsäure bei der Verseifung unterscheiden.

63. Die Trennung des Lecithins von anderen Stoffen ist zum Theil ausserordentlich schwierig ausführbar. Der Nachweis und die Trennung von anderen Körpern wird wohl am Besten nach folgendem Verfahren geschehen:

Die Flüssigkeiten werden mit Alkohol gefällt (Organe fein zertheilt mit Alkohol extrahirt), die Rückstände mit Alkohol bei 50—60° mehrmals ausgezogen, die Alkoholauszüge bei mässiger Wärme verdunstet; dabei ist auf möglichst neutrale Reaction zu achten, nöthigenfalls durch Essigsäure oder Soda während des Eindampfens zu neutralisiren. Der Verdampfungsrückstand wird mit einer Mischung von Alkohol und Aether extrahirt, das Filtrat durch Abdestilliren von Aether befreit, die alkoholische Lösung zum Syrup verdunstet. Der Rückstand wird mit Aether mehrmals ausgezogen, die filtrirten Auszüge vereinigt, der Aether abdestillirt. Neben Lecithin enthalten diese Rückstände wohl stets Cholesterin gewöhnlich auch Fette und seltener verschiedene andere Stoffe, aber keine Phosphate. Man zertheilt nun die Masse in concentrirter Aetzbarytlösung, erhitzt in Kolben oder Porcellanschale, erhält eine Stunde lang im Sieden unter häufigem Umrühren oder Schütteln, fällt mit CO_2strom den Baryt aus, filtrirt heiss, dampft das wässerige Filtrat auf dem Wasserbade ein und behandelt den Rückstand mit absolutem Alkohol, welcher Cholin löst und glycerinphosphorsauren Baryt ungelöst lässt. Den letzteren löst man dann mit Wasser und aus der alkoholischen Lösung fällt man das Cholin mit alkoholischer Lösung von Platinchlorid. Die in Wasser ungelöst gebliebenen Barytseifen werden mit Salzsäure zerlegt, Cholesterin und fette Säuren im Scheidetrichter mit Aether ausgeschüttelt, die abgegossenen Aetherlösungen mit

mässig verdünnter Natronlauge geschüttelt geben an diese die fetten Säuren ab, während das Cholesterin im Aether verbleibt.

Der Nachweis des Lecithins fusst bei diesem Verfahren, abgesehen von den Lösungsverhältnissen, auf der Darstellung seiner Zersetzungsprodukte, seine quantitative Bestimmung auf der Ermittelung des Phosphorgehaltes des Alkohol- oder Aetherauszugs, welche das Lecithin enthalten. Phosphorsaure und glycerinphosphorsaure Salze sind in beiden unlöslich. Nach der oben gegebenen Formel enthält das Lecithin 8,798 pCt. P_2O_5. Die bei der Phosphorbestimmung gefundene Quantität $Mg_2P_2O_7$ ist für Stearinsäurelecithin mit 7,2703, für Oelsäurelecithin mit 7,2342 und für Palmitinsäurelecithin mit 6,9811 zu multipliciren, um das Gewicht des Lecithins, welches ihr entspricht, zu berechnen.

Jecorin.

64. Jecorin ist von Drechsel[1]) eine Substanz genannt, welche er zuerst aus Pferdeleber durch wiederholte Behandlung mit kaltem Alhohol extrahirte. Der beim Verdunsten des Alkohols zurückbleibende halbflüssige Rückstand wurde mit absolutem Alkohol mehrmals ausgeschüttelt. Hierbei blieb das Jecorin ungelöst, wurde dann in Aether aufgenommen und aus dieser Lösung durch Alkohol gefällt. Die Lösung in Aether und Fällung mit Alkohol wurde zur Reinigung noch mehrmals wiederholt. Das dann getrocknete Jecorin bildet eine poröse, erdige, feste Masse, hygroskopisch und beim Reiben stark elektrisch werdend von der Zusammensetzung: C 51,4, H 8,2, N 2,86, S 1,4, P 3,5 Na 2,72 pCt. Von Baldi[2]) wurden dann aus Kaninchen-, Hundeleber, Rindermilz, Pferdeblut, Muskelfleisch, Rohcerebrin aus Menschengehirn mit geringer Modification des Drechsel'schen Verfahrens Jecorinpräparate dargestellt von den gleichen Eigenschaften, aber nach Analyse des Präparats aus Hundeleber anderer Zusammensetzung C 46,89, H 7,99—8,09, N 4,36 bis 4,88, S 2,14—2,70, P 2,29—2,75, Na 5,72 pCt. Als Zeichen der Reinheit der Präparate hebt Baldi hervor, dass die wässerige Lösung durch Salzsäure nicht getrübt werden dürfe. In Wasser löst es sich nach vorheriger schleimiger Quellung auf, trübt sich beim Stehen, wird beim Schütteln wieder klar. Durch Abdampfen zur Trockne wird es unlöslich auch in wasserhaltigem Aether. Durch concentrirte Salzlösungen, durch Kupferacetat oder Silbernitrat wird es gefällt. Der Silberniederschlag ist in überschüssiger Jecorinlösung löslich zu opalescirender Flüssigkeit, die mit Ammoniak versetzt und erhitzt portweinroth wird. Mit Kupfersalz und Natronlauge versetzte Lösung giebt beim Kochen Kupferoxydul.

[1]) Journ. f. pract. Chemie. Bd. 33 S. 425.
[2]) Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abthl. 1887. Supplbd. S. 100.

Mit starker Lauge gekocht giebt es beim Erkalten Seifenleim, auf Zusatz von Säure Schwefelwasserstoff. Beim Kochen mit Alkalilauge oder Salzsäure oder Salpetersäure bildet sich Stearinsäure.



Cholin $OH - CH_2 - CH_2 - N(CH_3)_3 - OH$.

65. Das Cholin ist zuerst von Strecker[1]) aus Schweinegalle, dann aus Rindergalle nach Behandlung mit Aetzbaryt erhalten, dann von Liebreich[2]) als Zersetzungsproduckt des Protagon (Umwandlung von Neurin), von Diaconow[3]) als Spaltungsproduct des Lecithin erkannt, von Wurtz[4]) synthetisch aus Trimethylamin und salzsaurem Glycol dargestellt. Aus jedem Lecithin thierischer oder pflanzlicher Herkunft, soweit darauf untersucht ist, ist bei der Spaltung mit Aetzbaryt Cholin gewonnen.

Man erhält das Cholin am Einfachsten und reichlich aus Eidotter durch öftere Extraction durch Zusammenschütteln mit Aether, Abgiessen der Aetherextracte und Ausziehen des Rückstandes mit heissem Alkohol. Die Rückstände, welche bei dem Abdestilliren des Aethers und des Alkohols bleiben, werden mit starker Aetzbarytlösung eine Stunde lang im Sieden erhalten, durch Einleiten von CO_2 in die mit Wasser verdünnte heisse Lösung der Baryt ausgefällt, filtrirt, das Filtrat bei mässiger Wärme zum Syrup verdunstet, dieser mit absolutem Alkohol extrahirt und das Filtrat mit alkoholischer Platinchloridlösung gefällt, so lange Niederschlag entsteht. Der hellgelbe Niederschlag, das Platindoppelsalz $(C_5H_{14}NOCl)_2PtCl_4$, mit Alkohol gewaschen, wird in wenig Wasser gelöst und zur Krystallisation bei mässiger Wärme oder gewöhnlicher Temperatur über Schwefelsäure verdunstet und die gebildeten Krystalle ein- oder mehrmals umkrystallisirt. Die Verbindung ist trimorph.[5]) Zuerst scheiden die Krystalle sich oft beim Abdampfen der Lösung als sechsseitige Blättchen oder lange flache Nadeln aus; die gereinigten Krystalle sind orangerothe oft grosse und dicke monokline Tafeln oder Prismen. Aus warmer 15pCt. Alkohol enthaltender Lösung scheidet sich das Platindoppelsalz in regulären Octaedern ab. Die Lösung der Platinchloridverbindung in Wasser (sie löst sich leicht darin) wird heiss durch Schwefelwasserstoffstrom zersetzt, das Schwefelplatin abfiltrirt, das

---

1) Ann. Chem. Pharm. 1862. Bd. 123 S. 353 u. Bd. 148 S. 76.

2) Ebendas. Bd. 134 S. 29.

3) Hoppe-Seyler, Medic. chem. Untersuch. 1867. Heft 2 u. 1868. Heft 3. Centralbl. f. d. med. Wiss. 1868. No. 1, 7 u. 28.

4) Ann. Chem. Pharm. Supplbd. 6 S. 116 u. 197.
Baeyer, ebendas. Bd. 140 S. 306.

5) Hundeshagen, Journ. f. pract. Chem. Bd. 28 S. 246.

platinfreie Filtrat verdampft zum Syrup, der beim Erkalten und Stehen über Schwefelsäure zu krystallisirtem salzsauren Cholin erstarrt. Man erhält es auch gut krystallisirt durch Schichten von Aether über eine concentrirte alkoholische Lösung des Salzes. Die freie Base erhält man aus demselben durch Behandlung mit frisch gefälltem Silberoxyd und Abdampfen als stark alkalisch reagirenden Syrup, der beim Erhitzen zu Aethylenoxyd, Wasser und Trimethylamin zerfällt. Die alkoholische Lösung des salzsauren Cholin giebt mit Goldchlorid das in kleinen gelben Krystallen sich ausscheidende, in kaltem Wasser schwer, in kaltem Alkohol und in Aether unlösliche, in heissem Wasser und heissem Alkohol lösliche Golddoppelsalz $C_5H_{14}NOCl, AuCl_3$.

Das Cholin giebt mit Phosphorwolframsäure in salpetersaurer Lösung weissen beim Sieden krystallinisch werdenden Niederschlag, mit Phosphormolybdänsäure voluminöse Fällung, mit Jodquecksilberjodkalium gelblichen krystallinischen, mit Kaliumwismuthjodid rothen amorphen, mit Quecksilberchlorid weissen körnigen, mit Jodwasserstoff oder Jodjodkalium braunen körnigen Niederschlag. (Brieger[1]).

Das Auftreten von Trimethylamin in den Destillationsproducten des Harns, des Blutes, des Leberthrans, der Häringslake, besonders nach Zusatz von Kalkmilch, welches Dessaignes, Hofmann, Winckler beobachtet haben, kann sehr wohl aus der Zersetzung des Cholin erklärt werden.

Ein allgemein anwendbarer Gang zur Aufsuchung und zum Nachweis des Cholin lässt sich noch kaum aufstellen. Starkes Concentriren der die freie Basis enthaltenden Lösung ist zu vermeiden, soweit es geht. Die Flüssigkeiten, welche zur Untersuchung auf sie verwendet werden sollen, sind angesäuert abzudampfen, der Rückstand mit absolutem Alkohol zu extrahiren und die alkoholische Lösung mit alkoholischem Platinchlorid zu fällen. Die Leichtlöslichkeit der Platinchloridverbindung in Wasser gestattet gute Trennung von Kalium- und Ammoniumplatinchlorid, die Unlöslichkeit derselben in Aether die Trennung von Lecithin. Das gereinigte Cholinplatinchlorid giebt beim Glühen 31,87 pCt. Platin.

Neurin $C_2H_3N(CH_3)_3OH$.

66. Das Neurin oder Trimethylvinylammoniumoxydhydrat wird nach Liebreich[2]) bei der Spaltung des Protagon mit Aetzbarytlösung erhalten und ist synthetisch von Hofmann[3]) und von Baeyer[4]) dar-

[1]) Brieger, Ueber Ptomaine. Berlin 1885. Theil 1 S. 37.
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 2 S. 12.
[3]) Jahresber. d. Chemie 1858. 339.
[4]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 140 S. 311.

gestellt. Die in Wasser sehr leicht lösliche Base giebt stark alkalische Reaction, zersetzt sich in concentrirter Lösung beim Sieden unter Entweichen von Trimethylamin. Die Chlorwasserstoffverbindung bildet zerfliessliche Nadeln, das Platindoppelsalz krystallisirt in 5seitigen gelben Tafeln, welche in Wasser gelöst leicht unter Wasseraufnahme in Cholinplatinchlorid übergehen. Das Neuringoldchlorid ist löslich in heissem, sehr wenig in kaltem Wasser. Brieger[1]) erhielt Neurin neben Neuridin bei Fäulniss von Fleisch nach 5 bis 8 Tagen Dauer derselben.

Gegen Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kaliumwismuthjodid, Jodwasserstoff, Quecksilberjodid, Jodjodkalium verhalten sich Neurinlösungeu kaum anders als Cholin, durch Gerbsäure wird Neurin in voluminösen Massen gefällt, Cholin nicht.

Oxyneurin oder Betaïn $C_5H_{11}NO_2 . H_2O = OH - N(CH_3)_3 - CH_2 - COOH$.

67. Von Liebreich[2]) in sehr geringer Menge im Harne gefunden, von Scheibler[3]) aus Rübenmelasse oder unreifen Rüben dargestellt, wurde es künstlich durch Oxydation des Cholin, sowie synthetisch durch Einwirkung von Monochloressigsäure auf Trimethylamin von Liebreich erhalten. Es krystallisirt in grossen wasserhellen an der Luft zerfliesslichen Krystallen, die in Wasser oder Alkohol löslich sind. Die Goldchloridverbindung, ebenso die Fällung durch Zinkchlorid sind schwer löslich in Wasser. Beim Erhitzen mit Aetzkali entweicht Trimethylamin. Die Lösungen geben mit Pikrinsäure gelbe Nadeln, mit Phosphormolybdänsäure gelben Niederschlag, mit Quecksilberchlorid ziemlich leicht lösliche kurze Prismen.

Muscarin $C_5H_{15}NO_3$.

Aus Fliegenpilz wurde Muscarin zuerst von Schmiedeberg und Koppe[4]) erhalten und dann von Schmiedeberg und Harnack[5]) durch Einwirkung von Salpetersäure auf Cholin oder auf Cholinplatinchlorid künstlich dargestellt. Die Base kann durch Jodkaliumquecksilberchlorid oder Jodkaliumwismuthjodid gefällt werden. Die freie Base reagirt alkalisch, ist zerfliesslich an der Luft, in Alkohol löslich. Das Platindoppelsalz krystallisirt in Octaedern, ist schwer löslich, auch das Gold-

---

1) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 16 S. 1190 u. 1406, Bd. 17 S. 515 u. 1137.
2) Ebendas. Bd. 2 S. 12 u. 167 u. Bd. 3 S. 161.
3) Ebendas. Bd. 2 S. 292 u. Bd. 3 S. 155.
4) Vierteljahrsschr. f. Pharm. 1870. Bd. 19 S. 276.
Das Muscarin. Leipzig 1869.
5) Arch. f. exper. Path. u. Pharm. Bd. 4 S. 168 u. Bd. 6 S. 101.

doppelsalz löst sich schwer. Brieger[1]) erhielt aus 5 Tage lang bei Sommertemperatur gefaultem Dorsch eine Base als Platindoppelsalz von Zusammensetzung und Eigenschaften des Muscarin.

Trimethylamin $N(CH_3)_3$.

Als Zersetzungsproduct des Cholin ist das Trimethylamin künstlich durch Erhitzen der concentrirten Lösung der Base besonders mit Alkalilauge, auch aus Betaïn erhalten und vielfach aus beiden Basen durch Fäulniss gebildet, z. B. in der Häringslake, faulendem Gehirn, Eiern und anderen lecithinreichen Substanzen; auch aus gefaultem Harn ist es gewonnen.

Eigenthümlich riechende (nach Häringslake) in Wasser sehr lösliche, bei 9,3° siedende Flüssigkeit von stark alkalischer Reaction; löst sich auch leicht in Alkohol, Aether. Platindoppelsalz regulär krystallisirend, 100 ccm Alkohol lösen von diesem Salz 0,0293 gr.

Dimethylamin ist ebenfalls häufig, Methylamin[2]), Diaethylamin[2]), Triaethylamin[3]), Butylamin[4]), Propylamin[5]) und Isoamylamin[4]) sind seltener als Fäulnissproducte aufgefunden.

Pentamethylendiamin oder Cadaverin $NH_2-(CH_2)_5-NH_2$.

68. Das Cadaverin war zuerst von Brieger[6]) bei der Fäulniss von Fleisch unter bestimmten Verhältnissen, besonders aus Culturen von Cholerabacillen erhalten, die Identität mit dem von Ladenburg[7]) synthetisch aus Trimethylencyanid mit Natrium in absolutem Alkohol dargestellten Pentamethylendiamin von demselben und von Brieger nachgewiesen und später diese Base von Baumann und v. Udránszky[8]), auch von Brieger und Stadthagen[9]) in Harn und Fäces von Personen, die an Cystinurie leiden, aufgefunden. Roos[10]) fand sie vorübergehend in den Faeces eines Mannes, der an Malaria und Dysenterie litt.

Die freie Base stellt einen Syrup dar, welcher eigenthümlichen Spermageruch besitzt, an der Luft raucht, CO_2 aufnimmt unter Carbonat-

[1]) Brieger, Ptomaine I. S. 48.
[2]) Bocklisch, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 18 S. 86 u. 1922.
[3]) Ehrenberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11 S. 253.
[4]) Gautier et Mourgues, Compt. rend. T. 107, p. 110 u. 254.
[5]) Brieger, Deutsche med. Wochenschr. 1887 S. 469.
[6]) Brieger, Ptomaine I. II. III. 1885 u. 1886.
[7]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 16 S. 1151, Bd. 18 S. 2957 u. 3100, Bd. 19 S. 780 u. 2586, Bd. 20 S. 2216.
[8]) Ebendas. Bd. 21 S. 2744 u. 2938. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 13 S. 562.
[9]) Arch. f. path. Anat. Bd. 115 S. 483 u. Berl. klin. Wochenschr. 1889 S. 344.
[10]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 192.

bildung. Siedepunkt der Base 175—178°. Sie ist mit den Wasserdämpfen flüchtig. Sie löst sich leicht in Wasser oder Alkohol, wenig in Aether. Die salzsaure Verbindung giebt mit Platinchlorid in alkoholischer Lösung einen gelben Niederschlag des Platindoppelsalzes. Die wässerige Lösung der Base giebt mit Pikrinsäure eine in kaltem Wasser fast unlösliche Verbindung in dünnen Nadeln oder langgestreckten Tafeln vom Schmelzpunkt 221° (unter Zersetzung). Salzsaures Cadaverin ist zerfliesslich an der Luft, zerfällt bei trockener Destillation in NH_3, HCl und Piperidin $C_5H_{11}N$. In wässeriger Lösung vereinigt sich das salzsaure Salz mit Quecksilberchlorid zu einem Doppelsalz, welches auskrystallisirt, Schmelzpunkt 211°. In wässeriger Lösung mit Natronlauge und Benzoylchlorid geschüttelt bildet die Base ihre Dibenzoylverbindung $(CH_2)_5(NH, CO\,C_6H_5)_2$, welche bei 130° schmilzt, unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol ist und aus dieser Lösung durch Aether nicht gefällt wird, sehr beständig sich bei Behandlung mit starken Säuren oder Alkalien verhält, durch anhaltendes Kochen mit starker Salzsäure in Alkohol in Benzoësäure und salzsaures Cadaverin gespalten wird. Mit Phosphormolybdänsäure giebt Cadaverin weissen, mit Kaliumwismuthjodid rothen krystallinischen Niederschlag, mit Jodjodkalium braune Krystallnadeln.

Zur Darstellung aus Harn oder Fäces, faulenden Substanzen dient offenbar sehr gut die Methode der Behandlung der wässerigen Lösung nach v. Udránszky und Baumann (a. a. O.). Für ungefähr 1 1/2 Liter Flüssigkeit 200 ccm 10procentige Natronlauge und 20 bis 25 ccm Benzoylchlorid; die Mischung wird geschüttelt, bis der Benzoylchloridgeruch verschwunden ist. Der grösste Theil der Dibenzoylverbindungen des Penta- und Tetramethylendiamins wird abgeschieden und abfiltrirt, durch Lösen in warmem Weingeist und Eingiessen der eingeengten Lösung in Wasser weiter gereinigt; aus dem trüben, mit Schwefelsäure angesäuerten und von der jetzt ausgeschiedenen Benzoësäure durch Filtration befreiten Filtrate wird der in Lösung gebliebene Rest der Dibenzoylbasen durch Ausschütteln mit Aether gewonnen. Der Aether wird abdestillirt, der Rückstand mit Natronlauge im Ueberschuss versetzt, zur Krystallisation stehen gelassen; die ausgeschiedenen Krystalle durch Waschen mit kaltem Wasser von Benzoylcystin und Natron etc. befreit, werden in wenig warmem Weingeist gelöst und aus dieser Lösung durch viel Wasser abgeschieden; die so erhaltene Menge wird mit der Hauptquantität vereinigt. Im Uebrigen vergl. den folgenden Paragraphen.

Die Gewinnung des Cadaverin nach der von Brieger angewendeten Methode zur Trennung der Ptomaine von einander siehe unten § 73.

Tetramethylendiamin oder Putrescin $NH_2 - (CH_2)_4 - NH_2$.

69. Das Putrescin ist von Brieger[1]) als Fäulnissproduct zuerst aufgefunden, dann von v. Udránszky und Baumann[2]) aus Harn und Fäces bei Cystinurie neben Cadaverin und von Roos[3]) aus den Fäces eines Diarrhöekranken erhalten. Es ist identisch mit dem synthetisch aus Aethylencyanid[4]) oder Pyrrolhydroxylamin[5]) durch Reduction mit Natrium dargestellten Tetramethylendiamin. Schmelzpunkt 24°, Siedepunkt 158—160°. Diese Base riecht ähnlich dem Cadaverin, giebt mit HCl ein in Alkohol schwer lösliches, nicht hygroscopisches Chlorhydrat, und dies letztere mit Platinchlorid ein in feinen Prismen aus der wässerigen Lösung krystallisirendes in Wasser schwer lösliches Platindoppelsalz. Die Dibenzoylverbindung der Base wird wie diejenige des Cadaverin (vergl. vorigen Paragraphen) erhalten und bildet langgestreckte Nadeln vom Schmelzpunkt 175—176°, die in Aether unlöslich sind, ebenso in Wasser, aber löslich in Alkohol.

Die Gewinnung des Putrescin aus Harn und Fäces geschieht nach Baumann's Methode mit Natronlauge und Benzoylchlorid (vergl. vorigen Paragraphen). Die Trennung der Dibenzoylverbindungen von Cadaverin und Putrescin gelingt gut durch die Unlöslichkeit der Dibenzoylverbindung des Putrescin in Aether.

Das Tetramethylendiamin ist mit dem Wasser ziemlich schwer flüchtig. Das Goldchloriddoppelsalz + $2H_2O$ ist nicht schwer löslich, die Pikrinsäureverbindung schwer löslich in Wasser, breite Nadeln. Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismuthjodid, Jodjodkalium geben mit dem salzsauren Putrescin Niederschläge, die mit Ausnahme der durch die ersten beiden Reagentien hervorgerufenen krystallinisch sind oder es bald werden.

Die Gewinnung des Putrescins aus faulenden Stoffen nach der Methode von Brieger vergl. unten § 73.

Piperazin oder Spermin, Diäthylendiimin $C_4H_{10}N_2 = C_2H_4\left\langle{NH \atop NH}\right\rangle C_2H_4$.

70. Synthetisch erhalten von Ladenburg und Abel[6]) durch Erhitzen von salzsaurem Aethylendiamin, von v. Hofmann[7]), von Majert[8]) nach

[1]) a. a. O.
[2]) a. a. O.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 192.
[4]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 19 S. 780.
[5]) Ebendas. Bd. 22 S. 1968.
[6]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 21 S. 758 u. Bd. 23 S. 326 u. 3740 u. [Bd. 24 S. 2400.
[7]) Ebendas. Bd. 23 S. 3297.
[8]) Ebendas. Bd. 23 S. 3718.

anderen Verfahren dargestellt, ist das Piperazin zugleich als identisch anzusehen mit dem Spermin, dessen Phosphat Schreiner[1]) aus leukämischem Blute, aus Sperma etc. gewonnen und analysirt hat und wahrscheinlich auch mit einer aus Reinkulturen des Kommabacillus erhaltenen Base (siehe § 72, 1). Unter der Bezeichnung der Charcot'schen Krystalle sind seit langer Zeit mikroskopische platte Nadeln bekannt, welche, abgesehen von Leichenpräparaten, besonders in Sputis vielfach zur Beobachtung kommen. Nach den Untersuchungen von Schreiner enthalten diese Krystalle 21,2 pCt. Krystallwasser, welches bei 100° entweicht. Die trockene Substanz gab 35,1—35,4 pCt. P_2O_5 und 14,0 pCt. N. Sie sind unlöslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Kochsalzlösung, sehr schwer löslich in kaltem, leichter löslich in heissem Wasser, leicht löslich in verdünnten Säuren, in Alkalien und kohlensauren Alkalien, auch in Ammoniak.

Wird das natürliche Phosphat mit der berechneten Quantität Barytwasser zersetzt und das Filtrat verdunstet, so erhält man eine amorphe Masse, die sich meist bald in wawellitartige, in Alkohol oder Wasser lösliche Krystalle verwandelt. Die Lösungen der Base reagiren alkalisch, ziehen CO_2 aus der Luft an und geben beim Erhitzen auf Platinblech schwachen Ammoniakgeruch und dicke weisse Nebel. Mit Phosphorsäure vereinigt sich die Base in Lösungen beim Zusammenbringen und liefert sogleich wieder die Charcot'schen Krystalle. Die salzsaure Verbindung bildet in Wasser leicht, in Alkohol schwer lösliche, büschelförmig vereinigte, anscheinend 6seitige Prismen, das Platindoppelsalz ziemlich grosse Prismen, das Golddoppelsalz perlmutterglänzende goldgelbe Nadeln. Das Spermin wird gefällt durch Chlorzink, Gerbsäure, Silbernitrat, Quecksilberchlorid, Goldchlorid, Platinchlorid langsam; auch durch Phosphorwolfram- und Phosphormolybdänsäure wird Spermin gefällt. Kaliumwismuthjodid giebt damit scharlachrothen, nach einiger Zeit in's Gelbe spielenden krystallinischen Niederschlag. Nach der Methode von Baumann[2]) wurde von v. Hofmann[3]) durch Schütteln der Base in verdünnter Natronlauge mit Benzoylchlorid die Dibenzoylverbindung $(C_2H_4)_2(C_7H_5O)_2N_2$ als in Wasser nicht löslicher, in heissem Alkohol löslicher Niederschlag erhalten, der beim Umkrystallisiren aus heissem Alkohol in schönen rhombischen Krystallen vom Schmelzpunkt 191° erhalten wurde.

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 194 S. 68.

[2]) Vergl. oben § 68.

[3]) a. a. O.

Neuridin $C_5H_{14}N_2$.

71. Diese mit dem Pentamethylendiamin isomere Base ist von Brieger[1]) aus frischem menschlichen Gehirn und aus Hühnereiern in geringer Menge gewonnen, ferner in 5 bis 6 Tage lang gefaultem Fleisch, in gefaulten Fischen, Kuhkäse, Leim, Reinkulturen von Typhusbacillen gefunden und aus dem Wasserextracte nach Fällung mit Bleizucker, Ausfällen des Bleies mit Schwefelwasserstoff, Ansäuern mit Schwefelsäure, Entfernung der flüchtigen Säuren durch Kochen, nachherige Sättigung mit Baryt und Fällung der Base mit Quecksilberchlorid und Zerlegung des Niederschlages mit Schwefelwasserstoff gewonnen. Die freie Base riecht unangenehm, ist gelatinös, sehr leicht löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol oder Aether und zerfällt beim Kochen mit Natronlauge unter Bildung von Di- und Trimethylamin. Sie giebt die Isonitrilreaction nicht. Das salzsaure Neuridin giebt in wässeriger Lösung mit Phosphorwolframsäure amorphen Niederschlag im Ueberschuss des Fällungsmittels löslich, mit Phosphormolybdaensäure krystallinischen, mit Phosphorantimonsäure weissen flockigen, mit Pikrinsäure langsam ausfallenden Niederschlag, der sich bald in schöne gelbe Nadeln verwandelt, mit Kaliumwismuthjodid ein rothes amorphes Präcipitat, mit Goldchlorid krystallinische Fällung.

Ptomaïne.

72. Unter der Bezeichnung „Ptomaïne" hat zuerst Selmi[2]) eine Anzahl basischer Substanzen zusammengefasst, welche in ihrem Verhalten den Pflanzenalkaloiden sich anschliessen, aus Cadavern gewonnen werden und leicht zu Verwechselungen mit Coniin, Morphin etc. Veranlassung geben können. Brieger hat diesen Namen beibehalten, aber die Ptomaïne in der Weise abgegrenzt, dass unter ihnen basische Stoffe verstanden werden sollen, welche durch die Lebensprozesse der Mikroorganismen gebildet werden. Es gelang zugleich Brieger zuerst eine Anzahl solcher Basen in reinem Zustand krystallisirt und nach bestimmten Methoden zu gewinnen und ihre chemische Zusammensetzung und Eigenschaften festzustellen. Zu denselben gehören nach dieser Definition von Brieger eine Anzahl der hier in den letzten Paragraphen beschriebenen Substanzen, nämlich Cholin, Neurin, Muscarin, Trimethylamin, Dimethylamin, Methylamin, Tri-, Diäthylamin, Propylamin, Butylamin etc. Cadaverin, Putrescin, (wahrscheinlich auch Spermin), Neuridin. Durch

---

[1]) Brieger, Ptomaine. I. S. 20ff.

[2]) F. Selmi, Sulle ptomaine ed alcaloidi cadaverici e lore importanza in tossicologia. Bologna 1878. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 11 S. 808.

zahlreiche neuere Untersuchungen sind ausserdem eine grosse Zahl basischer Körper durch verschiedene Forscher, hauptsächlich durch Brieger[1]) selbst bekannt geworden, deren chemische Structur und characteristische Eigenschaften aber noch in der Untersuchung sich befinden, oder derselben noch weiterhin bedürfen. Es sollen hier nur die besser bekannten von denselben aufgeführt und die Methoden geschildert werden, deren sich Brieger und Andere nach ihm zur Auffindung und Trennung dieser Stoffe von einander bedient haben.

1. Base C_2H_5N[2]), aus einer Reincultur vom Koch'schen Kommabacillus auf Pankreassafteiweisslösung erhalten. Platinchloriddoppelsalz in Wasser sehr schwer löslich. Wahrscheinlich identisch mit Spermin.

2. Tetanotoxin $C_5H_{11}N$, aus einer nicht ganz reinen Cultur von Tetanusbacillen auf Rindfleisch und auf Gehirnbrei dargestellt von Brieger[3]), siedet bei 100° (jedoch nicht ganz wasserfrei erhalten). Das salzsaure Salz leicht löslich, schmilzt bei 205°, das Platinchloriddoppelsalz schwer löslich, zersetzt sich bei 240°, Goldchloriddoppelsalz leicht löslich, schmilzt bei 130° Die Base giebt Isonitril- und Senfölreaction.

3. Base $C_7H_{11}N$, aus Leberthran von Gautier u. Mourgues[4]) erhalten, farblose ölige Flüssigkeit, wenig löslich in Wasser, siedet bei 199°. (Vielleicht Dihydrodimethylpyridin?) Gold- und Platinchloriddoppelsalz, salzsaure, salpetersaure und schwefelsaure Verbindung dargestellt.

4. Base $C_8H_{11}N$[5]), bei der Fäulniss von Leim erhalten, ölige Flüssigkeit, zieht CO_2 an der Luft an und erstarrt zu blättriger Masse, giebt schwerlösliches Platindoppelsalz (vielleicht Phenylaethylamin).

5. Base $C_8H_{11}N$[6]), aus gefaulten Seepolypen, gelbliche Flüssigkeit, sehr wenig löslich in Wasser, siedet gegen 204°, zerfliessliches, salzsaures Salz, fast unlösliches Platindoppelsalz, es wird durch kochendes Wasser zersetzt. Goldchloriddoppelsalz, zwei Quecksilberdoppelsalze, Jodmethylverbindung. Diese Base liefert bei Behandlung mit Permanganat Nicotinsäure, welche beim Erhitzen mit überschüssigem Kalk Pyridin giebt.

6. Base $C_8H_{13}N$[7]), aus gefaultem Pferde-, Rindfleisch, Makrelen. Farblose ölige Flüssigkeit von Fliedergeruch, siedet gegen 210°, giebt leicht lösliches, salzsaures Salz, wenig lösliches Platindoppelsalz, ziemlich lösliches, leicht zersetzliches Golddoppelsalz. Nach Gautier u. Etard identisch mit Hydrocollidin.

---

[1]) L. Brieger, Untersuchungen über Ptomaïne. Berlin 1885—1886.

[2]) Kunz, Monatshefte f. Chemie. Bd. 9 S. 372.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 19 S. 3119 und deutsch. med. Wochenschr. 1887. S. 304.

[4]) Compt. rend. T. 107 p. 110 u. 254.

[5]) Nencki, Ueber Zersetzung der Gelatine u. s. w. Bern 1876 u. Monatshefte f. Chem. Bd. 10 S. 524.

[6]) Oechsner de Coninck, Compt. rend. T. 106 p. 160 u. 858 u. T. 108 p. 58 u. 809.

[7]) Gautier et Etard, Compt. rend. T. 94 p. 1600 u. T. 97 p. 264. Bullet. de l'acad. de méd. [2] T. 15 p. 80.

7. Base $C_9H_{13}N$[1]), aus gefaultem Pferdefleisch, gefaulten Makrelen, vielleicht Parvolin. Oelige Flüssigkeit, leicht löslich in Wasser, Alkohol, Aether, siedet etwas unter 200°. Das Platindoppelsalz ist wenig löslich, Golddoppelsalz löslich.

8. Base $C_{10}H_{13}N$, aus faulem Ochsenfibrin erhalten[2]), flüssig, wenig löslich in Wasser, von leichtem Pyridingeruch, siedet bei 200°. Salzsaures Salz etwas zerfliesslich, unlösliches Platindoppelsalz, leicht zersetzliches Golddoppelsalz.

9. Base $C_{10}H_{15}N$, aus stark gefaultem Octopusfleisch erhalten von Oechsner de Coninck.[3]) Leicht gelbliche, schleimige Flüssigkeit von angenehmem Geruche, in Wasser wenig, in Alkohol und Aether sehr löslich, siedet gegen 230° unter beginnender Zersetzung, bräunt sich schnell an der Luft und scheidet dickes Harz ab. Zerfliessliches salzsaures und bromwasserstoffsaures Salz, an der Luft schnell sich zersetzend. Platindoppelsalz in kaltem Wasser unlöslich, in warmem Wasser sehr leicht gelöst, durch kochendes Wasser, auch an feuchter Luft, zersetzt. Setzt man zu der noch heissen Lösung des Jodmethylats einen Tropfen concentrirter Kalilauge, so entsteht schöne Rothfärbung, welche bald in Braun übergeht und nach einer Stunde blaugrüne Fluorescenz.

10. Base $C_{10}H_{17}N$, aus Reincultur von Bacterium allii auf Nähragar erhalten von Griffiths[4]). Zerfliessliche mikroskopische Nadeln von eigenthümlichem Geruch nach Weissdorn, löslich in heissem Wasser, Alkohol, Aether. Platindoppelsalz wenig löslich in kaltem Wasser. Nach Griffiths wahrscheinlich ein Hydrocoridin.

11. Base $C_5H_{12}NO_4$, aus dem Harn Scharlachkranker und aus der Reincultur von Microc. scarlat. (?) von Griffiths[5]) erhalten. Weisse krystallinische wasserlösliche Substanz; krystallisirende Chlorwasserstoff- und Goldchloridverbindung.

12. Base $C_5H_{19}NO_2$, aus dem Harn Keuchhustenkranker und der Reincultur eines Bacillus, den Affanasieff in dem Auswurf bei Keuchhusten gefunden hat, von Griffiths[6]) erhalten, weisse krystallinische wasserlösliche Substanz, Chlorwasserstoff und Goldchloridverbindung.

13. Mydatoxin[7]) $C_6H_{13}NO_2$, aus gefaulten menschlichen Leichentheilen und gefaultem Pferdefleisch. Im Vacuum zu Blättchen erstarrender, in Alkohol und in Aether nicht löslicher Syrup. In Wasser leicht lösliches Platindoppelsalz, Schmelzpunkt 193°.

14. Mytilotoxin $C_6H_{15}NO_2$, aus giftigen Miessmuscheln von Brieger[8]) erhalten. Das Golddoppelsalz schmilzt bei 182°. Bei Destillation mit Kalilauge entsteht Trimethylamin.

15. Mydin $C_8H_{11}NO$, aus gefaulten menschlichen Leichentheilen, gefaultem Pferdefleisch, aus Reinculturen von Typhusbacillen auf peptonisirtem Bluteiweiss

---

[1]) Gautier et Etard, Compt. rend. T. 94 p. 1600. Bullet. de l'acad. de méd. [2] T. 15 p. 80.

[2]) Guareschi u. Mosso, Journ. f. pract. Chem. Bd. 27 S. 425. Guareschi, Ann. di chim. e di farm. 4. Ser. T. 6 p. 237.

[3]) Compt. rend. T. 106 p. 858, T. 110 p. 1339, T. 112 p. 584.

[4]) Compt. rend. T. 110 p. 416.

[5]) Compt. rend. T. 113 p. 656.

[6]) Compt. rend. T. 114 p. 496.

[7]) Brieger, Ptomaïne III. S. 32.

[8]) Ebendas. III. S. 76 u. Arch. f. pathol. Anat. Bd. 115 S. 483.

von Brieger[1]) dargestellt; riecht nach Ammoniak und zersetzt sich beim Destilliren, giebt ein sehr leicht lösliches Platindoppelsalz. Die Pikrinsäureverbindung schmilzt bei 195°.

16. Gadinin $C_7H_{17}NO_2$, aus gefaulten Dorschen und gefaultem Leim von Brieger[2]) gewonnen, giebt ein leicht lösliches salzsaures Salz, schwer lösliches Platindoppelsalz, kein Golddoppelsalz.

17. Typhotoxin $C_7H_{17}NO_2$[3]), aus Reinculturen von Typhusbacillen auf Fleischbrei; giebt leicht lösliches Platindoppelsalz, schwer lösliches Golddoppelsalz vom Schmelzpunkt 176°, schwer lösliches Pikrat.

18. Base $C_2H_8N_2$[4]), aus gefaultem Dorsch, destillirt mit Aetznatron unzersetzt, ist nicht identisch mit Aethylendiamin, giebt leicht lösliches salzsaures Salz, schwer lösliches Platindoppelsalz.

19. Anthracin $C_3H_6N_2$, aus Kaninchen dargestellt, die mit Bacill. anthracis. inficirt waren.[5])

20. Saprin $C_5H_{14}N_2$, aus gefaulten menschlichen Organen, vom isomeren Cadaverin durch einzelne Reactionen unterschieden; auch dadurch, dass es kein zerfliessliches salzsaures Salz, kein Golddoppelsalz und ein anders krystallisirendes Platindoppelsalz bildet.[6])

21. Base $C_5H_{12}N_2O_4$, aus faulenden Massen; pinselförmig angeordnete Nadeln, giebt ein in Alkohol ziemlich lösliches Platindoppelsalz.[7])

22. Base $C_7H_{18}N_2O_6$, aus faulenden Massen, bildet kurze, dicke an der Luft sich bräunende Prismen, in Alkohol unlösliches Platindoppelsalz.[7])

23. Tetanin $C_{13}H_{30}N_2O_4$ wurde von Brieger[8]) dargestellt 1) aus nicht ganz reiner 8 Tage alter Kultur von Tetanusbacillen auf Fleisch, 2) aus Haut und Muskeln vom amputirten Arm eines tetanischen Menschen, 3) aus mehrere Monate gefaulten menschlichen Leichentheilen. Diese Base bildet einen gelben Syrup, giebt zerfliessliches salzsaures Salz, das sich allmälig zersetzt. Das Platindoppelsalz bildet hellgelbe Blättchen, welche nach dem Trocknen in Wasser ziemlich schwer löslich sind.

24. Pyocyanin $C_{14}H_{14}N_2O$ (siehe § 156).

25. Base $C_{14}H_{17}N_2O_6$, von Griffiths[9]) aus dem Urin Diphtheriekranker und der Reincultur des Klebs-Loeffler'schen Diphtheriebacillus No. 2 (?) dargestellt; weisse krystallinische Substanz, Chlorwasserstoff- und Goldchloridverbindung.

---

1) Ptomaïne III. S. 26.
2) Ebendas. I. S. 49 u. Deutsch. med. Wochenschr. 1889 S. 469.
3) Ebendas. III. S. 86.
4) Ebendas. I. S. 44.
5) Hoffa, Sitzungsber. d. phys. med. Ges. Würzburg 1889. S. 96.
6) Brieger, Ptomaïne II. S. 46.
7) Pouchet, citirt nach Gautier, Bull. de l'acad. de méd. (2) T. 15 p. 84.
8) Brieger, Ptomaïne III. S. 95.
Berlin. klin. Wochenschr. 1888 No. 17.
Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 19 S. 3119.
Arch. f. pathol. Anat. Bd. 112 S. 549.
9) Compt. rend. T. 113 p. 656.

26. Base $C_{15}H_{10}N_2O_6$, von Griffiths[1]) aus dem Urin Rotzkranker und der Reincultur von Bac. mallei dargestellt; weisse krystallinische wasserlösliche Substanz; krystallisirendes salzsaures- und Platindoppelsalz, Goldchloridverbindung.

27. Base $C_{20}H_{26}N_2O_3$, von Griffiths[2]) aus dem Urin Pneumoniekranker dargestellt; in Wasser lösliche, mikroskopische Nadeln; salzsaures und Platindoppelsalz; Goldchloridverbindung; dreht die Ebene des polarisirten Lichtes nach rechts, $(\alpha)_D = + 23{,}5$.

28. Morrhuin[3]) $C_{19}H_{27}N_3$, aus Leberthran. Dicke ölige Flüssigkeit, die in Wasser wenig löslich, in Alkohol und Aether löslich ist und schwach nach Flieder riecht; giebt ein lösliches Platindoppelsalz.

29. Base $C_3H_5N_3O$, von Griffiths[4]) aus dem Urin Masernkranker dargestellt; wasserlösliche Blättchen; in Nadeln krystallisirendes Platindoppelsalz. Quecksilberchloriddoppelsalz bildet prismatische Nadeln; Glycocyamidin?

30. Base $C_6H_{13}N_3O_2$, von Griffiths[5]) aus dem Harn eines Falles von Ohrgeschwulst (?) dargestellt; weisse prismatische Nadeln, Propylglycocyamin.

31. Base $C_{17}H_{38}N_4$, aus gefaulten Makrelen, aus der Mutterlauge der Base $C_8H_{13}N$ (siehe oben Base 6), lösliches Platindoppelsalz, welches sich beim Erhitzen auf 100° zersetzt.[6])

32. Asellin[3]) $C_{25}H_{32}N_4$, aus Leberthran, bildet eine amorphe Masse, welche in Wasser unlöslich, in Alkohol und in Aether löslich ist. Das Platindoppelsalz ist in kaltem Wasser unlöslich.

33. Base $C_{12}H_{16}N_5O_7$, von Griffiths[7]) aus dem Urin von Epileptischen dargestellt. Weisse Prismen, in Wasser leicht löslich, krystallisirende Chlorwasserstoff- und Goldchloridverbindung.

Leucomaïne.

Im Gegensatz zu den Ptomaïnen nennt Gautier[8]) diejenigen basischen Substanzen, welche nach seiner Ansicht regelmässig als physiologische Zersetzungsprodukte der Eiweisskörper ohne Mitwirkung von Mikroorganismen in den thierischen Geweben während des Lebens gebildet werden, Leucomaïne (von λευκῶμα Eiweiss); Ausser einigen bereits seit längerer Zeit bekannten Stoffen: Kreatinin und Betaïn des Harns, von Pouchet aus dem Harn isolirte Alkaloide, Alkaloide aus Schlangengift und normalem menschlichen Speichel (Gautier), rechnet er dazu eine Reihe von ihm aus Fleisch isolirter Basen (Xanthokreatinin etc.), ferner die Basen aus Leberthran u. a. Zu einer Zusammenfassung dieser verschiedenen Körper zu einer besonderen Gruppe liegt vor der Hand kein Grund vor; einige derselben, z. B. die Basen aus Leberthran, gehören offenbar zu den Ptomaïnen und sind bei diesen besprochen worden.

---

1) Compt. rend. T. 114 p. 1382.
2) Ebendas.
3) Gautier et Mourgues, Compt. rend. T. 107 p. 110 u. 626.
4) Compt. rend. T. 114 p. 496.
5) Compt. rend. T. 113 p. 656.
6) Gautier, Bull. de l'acad. de méd. [2] T. 15 p. 82.
7) Compt. rend. T. 114 p. 185.
8) Bullet. de l'acad. de médec. [2] T. 15 p. 122.

Verfahren von Brieger zur Isolirung der Ptomaïne.[1])

73. Die gefaulten Massen werden mit Salzsäure unter Vermeidung eines Ueberschusses schwach angesäuert und zum Syrup eingedampft. Während des Eindampfens soll die Reaction stets schwach sauer gehalten werden. Beim Extrahiren des Syrups mit absolutem Alkohol gehen sämmtliche Ptomaïne, auch die deren salzsaure Verbindungen in reinem Zustande in Alkohol unlöslich sind, in diesen über. Der alkoholische Auszug wird eingedampft und der Rückstand abermals mit absolutem Alkohol ausgezogen, wobei schon in Alkohol schwer lösliche Basen z. B. salzsaures Neuridin häufig ungelöst bleiben. Das Abdampfen des alkoholischen Auszugs und Extrahiren des Rückstandes mit neuem Alkohol kann mehrmals wiederholt werden.

a. Man kann den Rückstand des Alkoholauszugs mit Wasser aufnehmen und die wässerige Lösung mit Pikrinsäure versetzen, wenn es sich um die Gewinnung von Neuridin und Cholin handelt; es fällt in kaltem Wasser unlösliches Neuridin aus; beim Eindampfen der Mutterlauge scheidet sich das weniger schwer lösliche Cholinpikrat ab.

b. Die alkoholische Lösung wird mit alkoholischer Lösung von Quecksilberchlorid im Ueberschuss versetzt, der Niederschlag nach 24 Stunden abfiltrirt.

A. Der Niederschlag. Beim Auskochen desselben mit viel Wasser gehen die Ptomaïne in Lösung, die Eiweissstoffe bleiben ungelöst. Beim Erkalten des Filtrats krystallisirt das äusserst schwer lösliche Quecksilberdoppelsalz des Cholin alsbald vollständig aus, während die übrigen Basen in Lösung bleiben. Man leitet durch die abfiltrirte Mutterlauge Schwefelwasserstoff, filtrirt vom Schwefelquecksilber ab, entfernt den Schwefelwasserstoff, dampft die Lösung ein und erschöpft den Rückstand mit Alkohol. Das salzsaure Putrescin bleibt zurück, während das salzsaure Cadaverin gelöst wird. Beim längeren Stehen des alkoholischen Auszugs fallen auch die etwa in Lösung gegangenen Reste des Putrescin aus. Das im alkoholischen Filtrate gelöste Cadaverin kann einmal durch Platinchlorid gefällt und durch Umkrystallisiren aus Wasser, wobei es der Schwerlöslichkeit seines Platinsalzes wegen zuerst ausfällt, während z. B. die Platinsalze von Saprin, Mydaleïn[2]) löslicher sind, gereinigt werden, oder es kann durch alkoholische Quecksilberchloridlösung niedergeschlagen werden. Kocht man den entstandenen Niederschlag mit nicht zu viel Wasser aus, so krystallisirt das schwer lösliche Cadaverinquecksilberchlorid bald aus.

[1]) Brieger, Ptomaïne II S. 53.

[2]) Sehr giftige noch nicht genügend bekannte Base, vergl. Brieger, Ptomaïne II S. 49—51.

Ferner kann zur vollständigen Trennung von Cadaverin und Putrescin auch das verschiedene Verhalten der Quecksilber- und der Goldsalze benutzt werden, insofern das Putrescin ein ziemlich schwer lösliches Goldchloridsalz und ein leicht lösliches Quecksilbersalz bildet, während das Cadaverin sich gerade umgekehrt verhält.

B. Das Filtrat enthält noch geringe Reste von Ptomaïnen, z. B. können neben Methylguanidin Diäthylamin, Methylamin, Trimethylamin in dasselbe übergehen.

Auch des neutralen Bleiacetats und gelegentlich der Phosphormolybdänsäure, deren Verbindungen durch essigsaures Blei zerlegt werden, hat sich Brieger bedient. Kaliumquecksilberjodid, Kaliumwismuthjodid, Kaliumcadmiumjodid räth er mit Vorsicht zu gebrauchen, da das Jod bei Zerlegung dieser Verbindungen durch Schwefelwasserstoff etc. leicht Störungen bewirken kann.

Die von Baumann angegebene Methode der Ausfällung der Basen als Dibenzoylverbindungen durch die Behandlung mit Natronlauge und Benzoylchlorid, welche für Cadaverin, Putrescin, Spermin so vorzügliche Resultate gegeben hat, ist bereits oben in § 68 beschrieben.

Methode von Gautier zur Abscheidung der Ptomaïne.*)

74. Man säuert die faulende Flüssigkeit mit Oxalsäure an, entfernt diejenigen Fettsäuren, welche beim Erwärmen auf der Oberfläche schwimmen, filtrirt und destillirt, so lange ein trübes Destillat übergeht. Auf diese Weise werden Phenol, Indol, flüchtige fette Säuren, ein Theil des Ammoniaks u. s. w. entfernt. Der Rückstand wird mit Kalk alkalisch gemacht, filtrirt und im Vacuum bis zur Trockne destillirt.

a. Das in sehr verdünnter Schwefelsäure aufgefangene Destillat wird neutralisirt, fast bis zur Trockne eingedampft, das abgeschiedene schwefelsaure Ammoniak entfernt und die Mutterlauge mit absolutem Alkohol aufgenommen. Die die Ptomaïne enthaltende alkoholische Lösung wird destillirt, der Rückstand mit etwas Natronlauge versetzt und nach einander mit Aether, Petroläther und Chloroform extrahirt, in welche Lösungsmittel die Ptomaïne übergehen.

b. Der Rückstand wird nach dem Trocknen und Zerreiben mit Aether von 36° behandelt, welcher die fixen Basen löst. Man verdunstet den Aether, nimmt den Rückstand mit etwas angesäuertem Wasser auf und fällt die Basen durch ein Alkali aus.

---

*) Bullet. de l'academ. de médic. [2] T. 15 p. 75.

Methode von Griffiths zur Abscheidung der Ptomaïne aus pathologischen Harnen.[1])

Eine grössere Quantität Harn wird mit wenig Natriumcarbonat alkalisch gemacht und mit der Hälfte seines Volums Aether ausgeschüttelt; den abgegossenen und filtrirten Aether schüttelt man mit einer Lösung von Weinsäure. Die abgetrennte weinsaure Lösung, welche die Ptomaïne als weinsaure Salze enthält, wird mit Soda alkalisch gemacht und wieder mit Aether geschüttelt. Beim Verdunsten der ätherischen Lösung hinterbleiben die Ptomaïne.

Harnstoff $NH_2 - CO - NH_2$.

75. Der Harnstoff ist der constanteste Bestandtheil des Harns von Menschen, Säugethieren und nackten Amphibien. Im normalen Blute von Säugethieren sowie in Transsudaten, humor aqueus, Lymphe, findet er sich in Spuren und häuft sich bei gehinderter Ausscheidung durch die Nieren nicht allein in diesen Flüssigkeiten an, sondern findet sich dann auch in den verschiedenen Secreten des Darmkanals und den Muskeln. Bei den Selachiern sehr reichlich in Blut und Organen.

Der Harnstoff wird künstlich dargestellt aus cyansaurem Kali, welches man durch Zusammenschmelzen von Cyankalium und Bleioxyd erhält, indem man mit schwefelsaurem Ammoniak das cyansaure Kali in wässeriger Lösung zersetzt, zur Trockne abdampft, den Rückstand mit absolutem Alkohol auszieht, filtrirt, zum Syrup abdampft und krystallisiren lässt.

J. Williams[2]) empfiehlt zunächst cyansaures Blei darzustellen, und dies mit schwefelsaurem Ammoniak zu zerlegen.

Zur Darstellung von Harnstoff aus Hunde- resp. Menschenharn dampft man den Urin zunächst auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbade zum Syrup ein, zieht letzteren mit Alkohol aus und verdunstet das alkoholische Filtrat auf dem Wasserbade zum Syrup. Aus dem Hundeharn scheidet sich alsbald der Harnstoff in Krystallen ab, welche durch Waschen mit wenig Alkohol und Auspressen von den Extractstoffen befreit werden können. Handelt es sich um Menschenharn, so fällt man den erkalteten Syrup durch Salpetersäure in mässigem Ueberschuss, filtrirt den Niederschlag ab, presst ihn zwischen Filtrirpapier ab, zertheilt ihn in nicht zuviel Wasser und fügt Bariumcarbonat hinzu, so lange Aufbrausen erfolgt. Jetzt dampft man auf dem Wasserbade zur Trockne, zieht den Rückstand mit absolutem Alkohol aus, filtrirt

---

1) Compt. rend. T. 113 p. 656.
2) Chem. Centralbl. 1868. No. 36.

und verdunstet das Filtrat zum Syrup. Beim Stehen in der Kälte krystallisirt der Harnstoff aus.

Der Harnstoff bildet meist sehr dünne, lange, vierseitige, oft innen hohle Prismen mit sehr stumpfer Pyramide an den Enden, von der gewöhnlich nur eine oder zwei Flächen gut ausgebildet sind. Die Krystalle gehören dem tetragonalen Systeme zu, sind nicht hygroskopisch und wasserfrei, können ohne Zersetzung auf 120° erhitzt werden; steigert man die Temperatur noch höher, so schmelzen sie und zersetzen sich unter Entwickelung von Ammoniak. Schmelzpunkt 132° (132,65° Reissert*). In heissem Wasser löst sich der Harnstoff in jedem Verhältnisse. Ein Gewichtstheil Harnstoff löst sich in einem Gewichtstheile kalten Wasser oder siedenden Alkohol, nur in 5 Theilen kaltem Alkohol, in Aether ist er unlöslich, entzieht aber demselben Wasser, wenn er wasserhaltig war, und zerfliesst damit.

Verbindungen des Harnstoffs.

76. Der Harnstoff verbindet sich mit vielen Säuren zu krystallisirbaren Salzen und ebenso mit einigen Basen. Eine nicht unter 10 pCt. Harnstoff enthaltende, genügend kühlgehaltene Lösung giebt mit überschüssiger concentrirter Salpetersäure einen blättrig krystallinischen Niederschlag von salpetersaurem Harnstoff. Durch Fällung der concentrirten Harnstofflösung mit Oxalsäurelösung erhält man einen ähnlichen krystallinischen Niederschlag von oxalsaurem Harnstoff. Erwärmt man Harnstofflösung mit Quecksilberoxyd, so erhält man Verbindung beider.

Der Harnstoff krystallisirt gern mit Alkalisalzen zusammen aus Lösungen, die beide enthalten; besonders häufig erhält man durch Abdampfen von Harn zum Syrup und Stehenlassen Krystalle von Harnstoff-Chlornatrium in rhombischen Tafeln oder Prismen, welche aus $CH_4 N_2 O$, $Na Cl + H_2 O$ bestehen. Beim Umkrystallisiren zerfallen diese Verbindungen leicht. Mehrere Salze, die in Alkohol unlöslich sind, lösen sich etwas in alkoholischer Harnstofflösung, z. B. Ferrocyankalium, schwefelsaures Kali.

Der salpetersaure Harnstoff $CH_4 N_2 O$, NHO_3 bildet bei schneller Ausscheidung mikroskopische, meist sehr dünne rhombische oder sechsseitige Tafeln, die meist mehrfach zusammengehäuft erscheinen. Grosse und dicke Krystalle erhält man, wenn man Salpetersäure-Aethyläther durch Destillation von Alkohol mit starker Salpetersäure und Harnstoff darstellt und den Rückstand, welcher in der Retorte bleibt,

*) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 23 S. 2244.

aus Wasser umkrystallisirt. Er bildet dann dickere bis $^1/_2$ Zoll breite sechsseitige Tafeln oder Säulen des rhombischen Systems. Die rhombischen Tafeln zeigen einen Kantenwinkel von 82°. Dieses Salz ist schwer löslich in kalter Salpetersäure, leichter löslich in kaltem, viel leichter in heissem Wasser, wenig löslich in Alkohol, unlöslich in Aether; schnell erhitzt verpufft es ohne Rückstand, allmälig auf 140° erwärmt zerlegt es sich in salpetersaures Ammoniak, Harnstoff, Stickoxydul, Kohlensäure, ebenso allmälig beim Kochen der wässerigen, stark sauer reagirenden Lösung.

Oxalsaurer Harnstoff $(CH_4 N_2 O)_2 C_2 H_2 O_4 + H_2 O$. Durch Fällung von Harnstofflösung mit Oxalsäure erhalten, bildet rhombische Tafeln, die leichter gross und dick zu erhalten sind als die Krystalle des salpetersauren Salzes. Der oxalsaure Harnstoff ist schwer löslich in kaltem Wasser, noch schwerer in kaltem Alkohol (1 Theil in 62 Theilen Alkohol), leicht löslich in kochendem Wasser.

Phosphorsaurer Harnstoff $CH_4 N_2 O, PH_3 O_4$ ist von J. Lehmann in grossen glänzenden Krystallen des rhombischen Systems aus Phosphorsäure und Harnstoff dargestellt, auch aus dem abgedampften Harne mit Kleie gefütterter Schweine erhalten. Die Krystalle sind in Wasser sehr leicht löslich, aber nicht zerfliesslich.

Verbindungen von Harnstoff mit Salpetersäure und Quecksilberoxyd.

Durch Mischung einer wässerigen Lösung von Harnstoff mit salpetersaurem Quecksilberoxyd kann man drei verschiedene Verbindungen von Harnstoff, Salpetersäure und Quecksilberoxyd darstellen, in denen Harnstoff und Salpetersäure stets zu gleichen Molecülen mit verschiedenen Mengen Quecksilberoxyd verbunden sind. Liebig hat diesen drei Verbindungen Formeln gegeben, nach denen die eine Verbindung 4, die zweite 3, die dritte nur 2 Aequivalente Quecksilber auf 1 Aequivalent Harnstoff enthält. Nach Liebig erhält man das 4 Aequivalente Quecksilber enthaltende Salz durch Hinzufügen überschüssiger sehr verdünnter Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd zur gleichfalls verdünnten Harnstofflösung; diese Verbindung bildet Körner, welche aus radial gestellten Nadeln bestehen. Die 3 Aequivalente Quecksilber enthaltende Verbindung erhält man durch Fällung einer Harnstofflösung mit verdünnter Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd, indem man die letztere so lange hinzufügt, als sich noch ein Niederschlag bildet. Lässt man den Niederschlag an einem 40 bis 50° warmen Orte stehen, so verwandelt er sich grösstentheils in sechsseitige Tafeln, welche diese Zusammensetzung zeigen. Die Verbindung, welche 2 Aequivalente Quecksilber enthält, bekommt man durch Eintragen einer Lösung von salpeter-

saurem Quecksilberoxyd, bis eine Trübung sich zu zeigen beginnt. Man filtrirt die letztere ab, beim Stehen des Filtrates setzen sich dann krystallinische Krusten von kleinen rechtwinkligen zusammengehäuften Tafeln ab, welche die obige dritte Verbindung darstellen. Alle drei geschilderte Verbindungen sind weisse Niederschläge, die in Wasser zertheilt durch anhaltenden Strom Schwefelwasserstoffgas zerlegt werden in sich abscheidendes Schwefelquecksilber und gelösten salpetersauren Harnstoff; durch Verdunstenlassen der abfiltrirten Lösung kann man dann dies letztere Salz isolirt erhalten.

Eine Verbindung von Harnstoff mit Palladiumchlorür $Pd\,Cl_2 + 2CH_4\,N_2\,O$ unlöslich in Alkohol, schwer löslich in Wasser ist von Drechsel*) beschrieben.

Zersetzung des Harnstoffs.

Trocken erhitzt schmilzt der Harnstoff und liefert Biuret und Ammoniak, dann Cyanursäure; erhitzt man feuchten Harnstoff, so schmilzt er und zerlegt sich hauptsächlich zu Kohlensäure und Ammoniak. Längeres Kochen einer wässerigen Lösung zersetzt ihn gleichfalls allmälig zu kohlensaurem Ammoniak, durch Kochen mit ätzenden oder kohlensauren Alkalien wird er schnell in dieser Weise zerlegt; Kalkmilch wirkt nicht stark beim Kochen, in der Kälte gar nicht auf den Harnstoff ein.

Erhitzt man Harnstoff mit Wasser im zugeschmolzenen Glasrohre auf 180^0, so zerfällt er ganz in Kohlensäure und Ammoniak. Kochen des Harnstoffs mit starker Schwefelsäure und schliessliches Erhitzen bis 190^0 hat dieselbe Zerlegung zur Folge, endlich zeigt der Harnstoff diese Zersetzung unter der Einwirkung von Spaltpilzen, welche sich im faulenden Harne oder im Harne bei Blasencatarrh finden.

Durch salpetrige Säure wird Harnstoff in Kohlensäure, Wasser und Stickstoff, durch feuchtes Chlorgas oder Lösungen unterchlorigsaurer oder unterbromigsaurer Salze in Kohlensäure, Chlorwasserstoff resp. Bromwasserstoff und Stickstoff zersetzt. In concentrirter Lösung mit salpetersaurem Silber versetzt, stark eingedampft, zerlegt sich Harnstoff in cyansaures Silber und salpetersaures Ammoniak.

Trennung und Nachweis des Harnstoffs.

77. Die oben angegebenen Darstellungsweisen genügen in den meisten Fällen, um Harnstoff aus Harn oder anderen Flüssigkeiten, in denen derselbe nicht blos in Spuren sich findet, zu gewinnen.

Um sehr geringe Mengen von Harnstoff in Flüssigkeiten wie Blut,

*) Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 20 S. 469.

Galle, Milch oder in Organen aufzufinden und möglichst quantitativ zu bestimmen, sind sehr verschiedene Methoden vorgeschlagen und in Anwendung gezogen, haben jedoch alle ungenügende Resultate gegeben. Folgendes Verfahren, welches bezweckt, den Harnstoff selbst in reinem Zustande zu gewinnen, möchte wohl am Besten zum Ziele führen.

Die nöthigenfalls bei mässiger Wärme etwas eingeengte Flüssigkeit oder das zu untersuchende, frische, schnell zerkleinerte Organ oder frisches Blut werden mit dem 3 bis 4fachen Volumen starken Alkohol gut gemischt und 24 Stunden bei gewöhnlicher Temperatur stehen gelassen, dann abfiltrirt und der Rückstand mit Alkohol mehrmals gewaschen. Von dem gesammten Filtrat wird der grössere Theil des Alkohols abdestillirt, nach dem Erkalten mit Essigsäure stark angesäuert, Chloroform hinzugegossen, damit gut geschüttelt, im Scheidetrichter beide Flüssigkeiten getrennt, die Chloroformlösung mit Wasser gewaschen und die Waschflüssigkeit mit der übrigen alkoholisch-wässerigen Lösung vereinigt. Durch das Chloroform werden das den Filtrationen sehr hinderliche Lecithin und Seifen entfernt, ausserdem Fette und Cholesterin aufgenommen. Die wässrig alkoholische Lösung wird nun durch Abdampfen bei mässiger Wärme von Alkohol befreit, mit Schwefelsäure nach dem Erkalten stark sauer gemacht, dann mit Phosphorwolframsäure gefällt, so lange Niederschlag entsteht und hierdurch Pepton, Kreatinin und etwa vorhandene andere Basen gefällt. Der Niederschlag wird noch einige Male mit schwefelsäurehaltigem Wasser gewaschen, dann die vereinigten Filtrate mit Barytwasser übersättigt, der Ueberschuss durch einen Strom CO_2 abgeschieden, filtrirt und auf kleineres Volumen bei mässiger Wärme abgedampft, dann mit salpetersaurem Quecksilberoxyd der Harnstoff abgeschieden in der Weise der Harnstofftitrirung (§ 230), indem aber statt Natriumcarbonat zum Sättigen der freiwerdenden Salpetersäure ein feinzerriebener Brei von Bariumcarbonat in kleinen Portionen dient und die Flüssigkeit bis zum Ende schwach sauer erhalten wird. Schliesslich wird mit ein paar Tropfen Barytwasser fast gesättigt, aber nicht alkalisch gemacht, der Niederschlag abfiltrirt, einige Male mit kleinen Mengen Wasser gewaschen, mit dem Filter in etwas Wasser zertheilt und mit Schwefelwasserstoff das Quecksilber abgetrennt. Die Lösung soll jetzt ausser vielleicht etwas salpetersaurem Baryt nur salpetersauren Harnstoff enthalten. Sie wird auf dem Wasserbade erwärmt zur Austreibung des Schwefelwasserstoff, dann Bariumcarbonat hinzugefügt und gänzlich bei mässiger Wärme verdampft, der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahirt und filtrirt. Beim Verdampfen der alkoholischen Lösung soll Harnstoff krystallisirt erhalten werden.

Die alleinige Benutzung der Fällung durch Quecksilbernitrat nach

den Methoden von Picard und von Meissner geben ganz unbrauchbare Werthe, die Vereinigung der Quecksilberfällung mit der Bunsenschen Methode der Ueberführung des Harnstoffs in CO_2 und NH_3 durch Erhitzen auf 200° und Bestimmung der gebildeten CO_2, die nach dem Vorgange von Wurtz, Treskin, Munk, Pekelharing neuerdings viel benutzt ist, kann gleichfalls richtige Werthe, wie ich mich überzeugt habe, nicht geben, weil durch das salpetersaure Quecksilber selbst nach vorhergehender Fällung mit Bleiessig oft reichlich Stoffe gefällt werden, die beim Erhitzen mit ammoniakalischer Barytlösung auf 200° CO_2 bilden, aber kein Harnstoff sind.

Zum Nachweis, dass eine vorliegende Substanz mit Harnstoff identisch ist, können folgende Proben dienen:

1) Ein Krystall Harnstoff oder ein Tropfen hinreichend concentrirter Lösung desselben auf dem Objectträger mit 1 oder 2 Tropfen mässig verdünnter Salpetersäure versetzt, geben die rhombischen oder sechsseitigen Krystalltafeln des salpetersauren Harnstoffs.

2) Metallisches Quecksilber mit etwas Harnstofflösung und einigen Tropfen Salpetersäure schwach erwärmt, geben Entwickelung farbloser Gase, nämlich CO_2 und N_2.

3) Trockene Harnstoffkrystalle im trockenen Probirrohr über kleiner Flamme vorsichtig zum Schmelzen erhitzt und darin erhalten, bis die Masse wieder fest wird, geben Biuret, welches nach dem Erkalten mit etwas Natronlauge und einem Tropfen Kupfersulfatlösung Rothfärbung der Lösung bewirkt.

4) Ein Harnstoffkrystall mit einem Tropfen fast gesättigter wässeriger Lösung von Furfurol übergossen und dann sogleich mit einem Tropfen Salzsäure von ungefähr 1,1 spec. Gew. versetzt, giebt Farbenänderung von Gelb in Grün, Blau, Violet bis prachtvoll Purpurroth. Ein Tropfen einer einprocentigen Harnstofflösung mit $^1/_2$ CC. Furfurolwasser und 3 Tropfen Salzsäure giebt nach 5 Minuten noch intensive Färbung. Jm Harne ist die Färbung nicht rein. Allantoin giebt die gleiche Reaction, aber weniger intensiv und langsamer [1]).

Carbaminsäure H_2N-CO-OH.

78. Die Carbaminsäure, im freiem Zustande nicht bekannt, in Verbindung mit Ammoniak durch Einwirkung von trocknem Ammoniak auf trockene Kohlensäure entstehend $CO_2 + 2NH_3 = NH_2\,CO_2, NH_4$, ist im Blute von Drechsel [2]) zuerst nachgewiesen und ausserdem ihre Bildung bei der Einwirkung von übermangansaurem Kali auf verschiedene stick-

[1]) Schiff, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 10 S. 773.
[2]) Drechsel, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 16 S. 180.

stoffhaltige organische Körper erkannt. Das carbaminsaure Ammoniak bildet eine weisse Krystallmasse, leicht löslich in Wasser, aber in dieser Lösung unter Wasseraufnahme bald theilweise sich umwandelnd zu kohlensaurem Ammoniak. Carbaminsaurer Kalk wird dargestellt durch Einleiten von CO_2 in starkes wässeriges Ammoniak und Zusatz von Kalkmilch in kleinen Portionen, bis man auch bei heftigem Schütteln keine weitere Lösung mehr wahrnimmt, sondern eine Ausscheidung von Krystallen beginnt. Man lässt dann etwas absitzen, filtrirt direct in das etwa gleiche Volumen auf 0° abgekühlten absoluten Alkohol. Sofort entsteht dabei ein dicker amorpher Niederschlag, der nach einiger Zeit krystallinisch wird. Man bringt ihn dann in eine weite Glasröhre, in der sich ein Filter von Glaswolle und Quarzsand befindet, wäscht einmal mit einer Mischung von gleichen Volumina Alkohol und starker Ammoniaklösung, dann mit absolutem Alkohol, endlich mit absolutem Aether und trocknet zuletzt durch einen durchgeleiteten starken trocknen Luftstrom. Das erhaltene krystallinische Pulver besteht aus meist mikroskopischen flachen Prismen, dem Gyps ähnlich. Seine Zusammensetzung ist $2(NH_2, CO_2)_2 Ca + H_2O$. Beim Erhitzen zersetzt sich das Salz mit seinem Krystallwasser in Calciumcarbonat und carbaminsaures Ammoniak, während die Hälfte des carbaminsauren Kalk trocken übrig bleibt und beim weiteren Erhitzen erst in der Glühhitze in Calciumcyanamid, Wasser und CO_2 zerlegt wird $(NH_2, CO_2)_2 Ca = Ca CN_2 + 2 H_2O + CO_2$. Durch Säuren wird carbaminsaurer Kalk unter Aufbrausen schnell zersetzt. In Wasser löst sich das Calciumsalz klar auf, aber schon nach einer halben Minute erfolgt Trübung und es scheidet sich allmälig Calciumcarbonat aus. Ammoniakalische Lösung des Salzes erhält sich um so länger unzersetzt, je concentrirter die Ammoniaklösung ist. Aus einer gesättigten Lösung in warmem Ammoniak scheidet sich beim Erkalten das Salz in schönen 4seitigen Prismen ab. Auch carbaminsaures Kalium- und Natriumsalz ist von Drechsel dargestellt. Trocken erhitzt liefern diese Salze cyansaures Alkali und Wasser $NH_2, CO_2 Na = CNONa + H_2O$; dieselbe Umwandlung erleidet auch die Calciumverbindung, doch wird sie in der Glühhitze weiter zu $CN_2 Ca + CO_2$ zerlegt.

Der Nachweis der Carbaminsäure gründet sich im Wesentlichen auf die Eigenschaften des Calciumsalzes.

Eiweissstoffe bei gewöhnlicher Temperatur mit überschüssigem Kaliumpermanganat behandelt, geben sehr reichlich carbaminsaures Salz.

Schwefelcyansäure CNSH.

79. Schwefelcyansäure, auch Rhodanwasserstoff genannt, ist seit langer Zeit als Bestandtheil des Parotiden- und Submaxillarsecret sehr vieler, aber nicht aller Menschen bekannt, und ist in neuerer Zeit auch im normalen Harne von Menschen und Thieren[1]) und in der Kuhmilch[2]) gefunden. Der Gehalt dieser Flüssigkeiten an Schwefelcyanverbindung ist stets gering. Künstlich stellt man die Alkaliverbindung dar durch Schmelzen von Cyankalium mit Schwefel oder durch Einwirkung von Schwefelammonium auf Blausäure oder durch Verdampfen von Schwefelkohlenstoff, Alkohol und concentrirter Ammoniakflüssigkeit.

Die Verbindungen der Schwefelcyansäure mit Kalium, Natrium, Ammonium sind in Wasser oder Alkohol leicht löslich, farblos, leicht zerfliesslich. Die Lösungen derselben geben mit salpetersaurem Silber einen weissen käsigen Niederschlag, der in verdünnter Salpetersäure unlöslich, in Ammoniak schwer löslich ist. Mit Eisenchlorid geben sie intensiv blutrothe Färbung der Flüssigkeit, die durch starke Salzsäure nicht verändert wird. Mit Kupfersulfat geben sie smaragdgrüne Färbung.[3]) Mit Zink und Salzsäure zersetzen sie sich unter Entwickelung von SH_2. Eine Mischung von Eisenvitriol und Kupfervitriol fällt aus saurer oder neutraler Lösung die Schwefelcyansäure in Verbindung mit Kupfer im Oxydulzustand als feines weisses Pulver.

Der Nachweis der Schwefelcyanverbindungen geschieht am Besten durch ihr Verhalten gegen Eisenchlorid. Zur quantitativen Bestimmung dienen besonders die Fällung mit salpetersaurem Silber in der mit Salpetersäure angesäuerten Lösung, Auswaschen des Niederschlags, Schmelzen nach dem Trocknen mit Salpeter und Soda und Bestimmung der hierbei gebildeten Schwefelsäure durch Fällung der wässerigen Lösung der Schmelze nach Ansäuern mit Salpetersäure durch Chlorbarium. Auch die Intensität der Färbung der Flüssigkeiten nach Zusatz von Eisenchlorid und Salzsäure hat man zu einer colorimetrischen Bestimmung benutzt.

Einen Körper von der Zusammensetzung $C_3H_8N_2O$, der in kaltem Wasser oder Weingeist schwer, in heissem Wasser leicht löslich, in absolutem Alkohol oder Aether unlöslich ist, in weissen, der Hippursäure ähnlichen Formen krystallisirt, bei 250° schmilzt, mit Säuren leicht lösliche Salze liefert und mit salpetriger Säure behandelt eine Milchsäure giebt, deren Zinksalz 12,6 pCt. Krystallwasser enthält, hat Baumstark[4]) im Hunde- und im Menschenharn gefunden.

---

[1]) J. Munk, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 69 S. 354 und Gscheidlen, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 14 S. 401.

[2]) Musso, Maly, Jahresbericht f. 1877. S. 168.

[3]) Colasanti, Moleschott, Unters. zur Naturlehre. Bd. 14 2. Heft.

[4]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 173 S. 342.

Nucleïnbasen.

Hxpoxanthin $C_5H_4N_4O$ **Xanthin** $C_5H_4N_4O.O$
Adenin $C_5H_4N_4.NH$ **Guanin** $C_5H_4N_4O.NH$

Diese 4 Nucleïnbasen, deren Beziehungen zu dem Nucleïn von Kossel erkannt sind, zeigen eine dementsprechende allgemeine Verbreitung in den Geweben von Thieren und Pflanzen, werden aus allen entwickelungsfähigen Zellen, welche darauf untersucht sind, erhalten und sind zum Theil im freien Zustande in den Organen gefunden. Die Quantitäten, in denen sie präformirt gefunden werden, sind stets nur geringe, aber dieselben werden durch Behandlung der Organe in höherer Temperatur unter Einwirkung verdünnter Säuren gesteigert, indem durch Zerlegung des Nucleïn weitere Mengen derselben frei werden. Alle diese Nucleïnbasen werden durch ammoniakalische Silberlösung, sowie Fällungsmittel für Basen z. B. Phosphorwolframsäure, Phosphormolybdänsäure, Kaliumquecksilberjodid gefällt.

Hypoxanthin oder Sarkin $C_5H_4N_4O$.

80. Hypoxanthin findet sich relativ reichlich in vielen Organen und Zellen von Thieren und Pflanzen die reich an Kernen sind. Leukämisches Blut, Eiterzellen, Hefe liefern viel Hypoxanthin; auch im normalen menschlichen Harn finden sich geringe Mengen*). Es bildet farblose mikroskopische Krystalle, löst sich nach Strecker in 300 Thl. kaltem, in 78 Thl. siedendem Wasser, fast gar nicht in Alkohol. In selbst sehr verdünnten Alkalilaugen, Aetzammoniak und verdünnten Mineralsäuren wird es leicht gelöst, auch in concentrirter Schwefelsäure oder Salpetersäure. Es verbindet sich mit Basen, Säuren oder Salzen zu theilweise gut krystallisirenden Körpern. Das salzsaure Salz scheidet sich beim raschen Eindampfen in kleinen wetzsteinförmigen Krystallen, beim langsamen Verdunsten in glashellen Krystallen ab. Ebenso wie die übrigen Salze des Hypoxanthins zersetzt es sich beim Umkrystallisiren. In verdünntem Barytwasser gelöst giebt es bei Zusatz von concentrirter Barytlösung einen krystallinischen Niederschlag $C_5H_4N_4O$ $Ba(OH)_2$.

Versetzt man Hypoxanthinlösungen mit ammoniakalischer Silberlösung in der Siedetemperatur, so entsteht Niederschlag von der Zusammensetzung $C_5H_2Ag_2N_4O, H_2O$, der mehrere Stunden bei 120° getrocknet in die Verbindung $2(C_5H_2Ag_2N_4O)H_2O$ übergeht. Durch Silbersalpeter allein werden wässerige Hypoxanthinlösungen ebenfalls gefällt, aber der entstehende Niederschlag von Hypoxanthinsilbernitrat

*) Salomon, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11 S. 410.

hat keine constante Zusammensetzung, sondern stellt ein wechselndes Gemenge der Verbindungen $C_5H_4N_4O, AgNO_3$ und $C_5H_4N_4O, 2AgNO_3$ dar. Behandelt man dasselbe mit Ammoniak (auch in der Kälte geht die Einwirkung leicht vor sich), so entsteht die Verbindung $C_5H_2Ag_2N_4O.3H_2O$ und fügt man bei der Behandlung gleich überschüssiges Silbernitrat hinzu und trocknet bei 120°, so bildet sich quantitativ die ganz constant zusammengesetzte Verbindung $2(C_5H_2Ag_2N_4O)H_2O$.

Beim Zusammenbringen einer siedenden Lösung von Hypoxanthinpicrat mit neutralem oder nur schwach saurem, salpetersauren Silber bildet sich ein citronengelber Niederschlag von Hypoxanthinsilberpicrat $C_5H_3AgN_4O.C_6H_2(NO_2)_3OH$, der das Hypoxanthin fast quantitativ enthält. Auch die Verbindungen mit Zinkoxyd und Quecksilberoxyd sind in Wasser unlöslich; beim Versetzen einer Hypoxanthinlösung mit Quecksilberchlorid im Ueberschuss entsteht ein schwerer Niederschlag von der Zusammensetzung $C_5H_3N_4OHg_2Cl_3 + H_2O$ oder $1/2 H_2O$.[1]) Beim Kochen mit essigsaurem Kupfer erhält man Hypoxanthinkupferoxyd als graubraunen Niederschlag. Durch basisch essigsaures Blei wird reines Hypoxanthin nicht gefällt. Löst man salzsaures Hypoxanthin in heissem Wasser und fügt Platinchlorid hinzu, so erhält man beim Erkalten Krystalle des Doppelsalzes $2(C_5H_4N_4O.HCl), PtCl_4$. Mit Aetznatron und Aethylchlorocarbonat behandelt giebt das Hypoxanthin das Urethan desselben[2]). Beim Zusammenbringen von gleichen Theilen von Hypoxanthin und Adenin in heisser wässeriger Lösung scheiden sich beide Körper mit einander verbunden als schleimige später kreideartige Masse aus[3]). Mit schmelzendem Aetzkali auf 200° erhitzt liefert das Hypoxanthin Blausäure und Ammoniak.[4])

Verdampft man eine Lösung von Hypoxanthin in concentrirter Salpetersäure vorsichtig zur Trockne, so bleibt ein farbloser Rückstand, der in Kalilauge ohne Färbung gelöst wird, ebenso fällt die Weidel'sche Probe (siehe § 82) negativ aus (vergl. ferner die Reactionen bei Adenin im folg. §). Darstellung des Hypoxanthin aus Harn vergl. § 87, aus Organen § 324).

Adenin $C_5H_5N_5$.

81. Zuerst von Kossel[5]) aus der Pankreasdrüse gewonnen, findet sich in allen kernhaltigen thierischen und pflanzlichen Zellen in

---

[1]) Bruhns, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14 S. 571.
[2]) Kossel, ebendas. Bd. 16 S. 1.
[3]) Bruhns ebendas. Bd. 14 S. 561.
[4]) Kossel, ebendas. Bd. 6 S. 429.
[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 250 u. Bd. 12 S. 241. Ferner Thoiss

sehr geringer Quantität. Besonders reichlich wurde es aus Theeblättern dargestellt. Stadthagen hat es aus dem Harn eines Leukämischen erhalten.*)

Es bildet farblose lange nadelförmige Krystalle mit 3 Mol. Krystallwasser oder wasserfreie wetzsteinförmige Krystalle; die ersteren werden schon beim Liegen an der Luft, schneller beim Erwärmen undurchsichtig. Bringt man einige Krystalle in eine zur Lösung ungenügende Menge Wasser und erwärmt langsam, so sieht man bei 53^0 plötzlich Trübung der Krystalle auftreten (characteristische Reaction). Es löst sich bei Zimmertemperatur in 1086 Thl. Wasser, leicht in heissem Wasser; die wässerige Lösung reagirt neutral. Es ist unlöslich in Aether, Chloroform, löslich in Eisessig, etwas löslich in heissem Alkohol. In Mineralsäuren, auch in Essigsäure wird es leicht gelöst, ebenso in Kali- oder Natronlauge, bei der Neutralisation fällt es wieder aus. In wässerigem Ammoniak ist es leichter löslich als Guanin, schwerer als Hypoxanthin. Mit sehr verdünnter Ammoniaklösung auf dem Wasserbade erwärmt geht es völlig in Lösung. Wird eine saure Lösung von Adenin mit kohlensaurem Natron übersättigt, so scheidet es sich ausserordentlich langsam aus. Im Oelbade erhitzt, sublimirt es bei 220^0, bei 250^0 tritt theilweise Zersetzung ein. Es verbindet sich mit Säuren, Basen und mit Salzen. Die schwefelsaure, salzsaure, salpetersaure und oxalsaure Verbindung krystallisiren und zwar die erstere mit 2 Mol., die übrigen drei mit je $^1/_2$ Mol. Krystallwasser. Das Sulfat löst sich in 153 Thl. Wasser, das Chlorhydrat in 41,9, das Nitrat in 110,6 Thl. Wasser. Sulfat und Chlorhydrat können umkrystallisirt werden, ohne dabei wie die entsprechenden Verbindungen des Hypoxanthin und des Guanin ihre Säure zu verlieren. Das Oxalat scheidet sich in voluminösen rundlichen Massen ab und unterscheidet sich hierdurch sowie durch sein geringes Lösungsvermögen von den entsprechenden Salzen des Hypoxanthin, Xanthin und Guanin. Wässerige Adeninlösungen werden durch Pikrinsäure gefällt; der Niederschlag besteht aus büschelförmig gruppirten Nadeln, die mit einem Molekül Krystallwasser krystallisiren. Die Löslichkeit in Wasser, auf wasserfreies Salz berechnet, ist 1 : 3500 Thl. Sonach eignet sich diese Verbindung sowohl zum Nachweis des Adenin wie zur quantitativen Bestimmung und zur Trennung von Hypoxanthin. Adeninpikrat in heisser Lösung giebt mit salpetersaurem Silber einen Niederschlag von Adeninsilberpikrat $C_5 H_4 Ag N_5 . C_6 H_2 (NO_2)_3 OH + H_2 O$. Ausserdem ist Adeninquecksilberpikrat, Adenindichromat

u. Kossel Bd. 13 S. 395, Schindler Bd. 13 S. 437, Bruhns Bd. 14 S. 533, Bruhns u. Kossel Bd. 16 S. 1, Krüger Bd. 16 S. 160 u. 329.

*) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 109 S. 350.

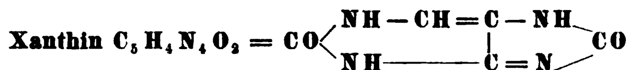
und Adeninquecksilbercyanid dargestellt. Die wässerige Lösung des Adenin giebt Niederschläge mit alkoholischer Chlorzinklösung, mit Quecksilberchlorid und zwar entsteht in der Hitze eine weisse körnige Fällung von $C_5 H_4 N_5 Hg Cl$, in der Kälte eine weisse flockige Fällung $C_5 H_4 N_5 Hg_2 Cl_3$; Niederschläge entstehen ferner mit Quecksilbernitrat, Kupfersulfat, Cadmiumchlorid, Ferro- und Ferrikaliumcyanid nach Zusatz von Essigsäure. Basisches Bleiacetat giebt keine Fällung. Versetzt man eine ammoniakalische Adeninlösung mit ammoniakalischer Silberlösung, so entsteht ein Niederschlag von der Zusammensetzung $C_5 H_4 N_5 Ag$, wenn die Quantität des hinzugefügten Silbers ungefähr einem Atom Silber auf ein Mol. Adenin entspricht, von der Zusammensetzung $C_5 H_3 N_5 Ag_2 + H_2 O$ hingegen, wenn beträchtlicher Silberüberschuss angewandt wird.

Löst man Adeninsilber in heisser Salpetersäure, so scheiden sich beim Erkalten nadelförmige Krystalle aus, welche keine constante Zusammensetzung haben und offenbar Gemenge von $C_5 H_5 N_5 Ag NO_3$ und $C_5 H_5 N_5 2 (Ag NO_3)$ sind. Aus verdünnten Lösungen von salzsaurem Adenin fällt Platinchlorid nach einiger Zeit gelbe Nadeln $(C_5 H_5 N_5 H Cl)_2 Pt Cl_4$. Kocht man eine Lösung dieses Salzes längere Zeit, so fällt ein gelbes Pulver von der Zusammensetzung $C_5 H_5 N_5 H Cl. Pt Cl_4$ aus, welches in kaltem Wasser sehr wenig löslich ist. Setzt man zu einer Lösung von salzsaurem Adenin Goldchlorid, so scheidet sich Adeningoldchlorid zum Theil in blattförmigen Aggregaten, zum Theil in würfelförmigen oder prismatischen Krystallen oft mit abgestumpften Ecken ab. Diese Niederschläge sind zur mikroskopischen Erkennung gut geeignet, weil die anderen Nucleïnbasen keine derartigen krystallinischen Goldverbindungen geben.

Gegen Säuren und Alkalien auch gegen Oxydationsmittel ist das Adenin sehr widerstandsfähig. Durch salpetrige Säure wird es in Hypoxanthin übergeführt; auch durch Fäulniss bei Luftabschluss entsteht Hypoxanthin aus Adenin. Beim Erhitzen mit Aetzkali im Oelbade auf 200° bildet sich reichliche Menge von Blausäure. Bei der Reduction mit Zink und Salzsäure auf dem Wasserbade geht Adenin in einen Körper über, der höchst wahrscheinlich Azulminsäure ist. Mit Salzsäure im zugeschmolzenen Glasrohr auf 180—200° erhitzt zerfällt Adenin in Ammoniak, CO_2, Ameisensäure und Glycocoll.

Reactionen des Adenin. Bei dem Behandeln des mit Salpetersäure auf dem Wasserbade verdampften Adenin mit Natronlauge entsteht keine Färbung, ebenso fällt die Weidel'sche Probe (siehe folg. §) negativ aus, dagegen ist folgendes Verhalten charakteristisch. Adenin wird eine halbe Stunde im Reagensglas mit Zink und Salzsäure im

Wasserbade erwärmt; die filtrirte und mit Natronlauge stark alkalisch gemachte Flüssigkeit färbt sich beim Stehen an der Luft langsam, schneller beim Schütteln anfangs rubinroth, später braunroth (Azulminsäure). Hypoxanthin giebt dieselbe Reaction, Guanin nicht. Siehe auch oben das Verhalten der Krystalle beim Erwärmen. Zur Erkennung unter dem Mikroskop dient, wie oben gesagt, das Golddoppelsalz. Bezüglich der Darstellung des Adenin aus Harn siehe unten § 87 und aus den Organen § 324.



82. Zuerst in menschlichen Blasensteinen (in denen es sehr selten beobachtet wird) aufgefunden, hat das Xanthin sich dann als normaler Harnbestandtheil in sehr geringen Mengen ergeben. Nach Salomon fehlt es gelegentlich. Sein sehr verbreitetes Vorkommen schliesst sich dem der übrigen Nucleïnbasen an. Künstlich wurde es durch Einwirkung von salpetriger Säure auf Guanin von Strecker dargestellt. Gautier[1]) giebt an es neben Methylxanthin und anderen Stoffen bei dem Erhitzen von Blausäure mit Wasser und Essigsäure erhalten zu haben.

Das Xanthin bildet im reinen Zustande ein farbloses Pulver, welches beim Reiben Wachsglanz annimmt. In Wasser ist es sehr wenig löslich. Nach Almén[2]) löst sich 1 Theil Xanthin bei 16° in 14151 Theilen, bei 100° in 1300 bis 1500 Theilen Wasser. In Alkohol oder Aether ist es unlöslich. In Alkalilauge, auch in Ammoniak löst es sich leicht, beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung scheidet sich das Xanthin in Gruppen von Krystallblättchen aus. Auch in Säuren löst sich Xanthin, das salzsaure Xanthin bildet kleine Prismen, die sich mit Wasser zersetzen, auch das schwefelsaure Salz verliert Schwefelsäure bei der Behandlung mit Wasser. Das Xanthin ist in kalter verdünnter Salzsäure ziemlich schwer löslich, leichter beim Erwärmen. Die concentrirte Lösung von Xanthin in Ammoniak wird von ammoniakalischer Lösung von salpetersaurem Silber gefällt. Der gallertig flockige Niederschlag hat die Zusammensetzung $C_5H_4N_4O_2, Ag_2O$. In heisser Salpetersäure löst sich dieser Niederschlag und scheidet sich beim Erkalten, wenn die Lösung verdünnt ist, nur sehr langsam das salpetersaure Xanthinsilberoxyd $C_5H_4N_4O_2, AgNO_3$ aus. Die leichtere Löslichkeit dieser Verbindung in heisser Salpetersäure, langsame Ausscheidung beim Erkalten unterscheiden das Xanthin vom Hypoxanthin, Adenin und Guanin, deren

[1]) Bullet. de la société chimique de Paris T. 42 p. 142.

[2]) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 96 S. 98.

salpetersaure Silberverbindungen sonst grosse Aehnlichkeit mit der des Xanthin zeigen.

Die ammoniakalische Lösung des Xanthin wird durch Chlorzink oder Chlorcalcium gefällt. Die wässerige Lösung wird durch essigsaures Kupferoxyd erst beim Kochen in gelbgrünen Flocken gefällt, durch Quecksilberchlorid schon bei gewöhnlicher Temperatur, noch bei 30000facher Verdünnung entsteht Trübung.

Wird Xanthinblei $C_5 H_2 N_4 O_2 Pb$ mit Jodmethyl bei 100° digerirt, so erhält man Theobromin und die Silberverbindung des letzteren mit Jodmethyl behandelt, giebt Coffein; das Theobromin ergiebt sich hiernach als Dimethylxanthin und das Coffein als Trimethylxanthin. Diese beiden substituirten Xanthine geben ebenso wie das Xanthin selbst bei der Behandlung mit Salzsäure und chlorsaurem Kali Alloxan resp. seine Methylderivate, während Guanin hierbei neben CO_2 und Parabansäure Guanidin liefert[1]). Mit starker Salzsäure in geschlossenem Rohr über 200° erhitzt, zersetzt sich Xanthin in Ammoniak, CO_2, Ameisensäure (resp. CO und $H_2 O$) und Glycocoll.[2])

Reactionen: 1) Mit Salpetersäure abgedampft giebt eine Probe Xanthin einen gelben Rückstand, der durch Natronlauge roth und dann beim Erhitzen purpurroth gefärbt wird. („Xanthinprobe.")

2) Bringt man in einem Uhrglase in Natronlauge etwas Chlorkalk, rührt um und trägt eine Probe Xanthin ein, so bildet sich um die Körnchen desselben zuerst ein dunkelgrüner, bald sich braunfärbender Hof, der dann wieder verschwindet.

3) Erwärmt man eine kleine Menge von Xanthin mit frischem Chlorwasser und einer Spur Salpetersäure bis die Gasentwickelung aufhört, verdunstet dann auf dem Wasserbade zur Trockne und bringt den weissen Rückstand unter einer Glasglocke in eine Ammoniakatmosphäre, so färbt er sich in kurzer Zeit dunkelrosenroth (Weidel'sche Reaction).[3])

Zur Aufsuchung des Xanthin in Harnsteinen dienen hauptsächlich folgende Eigenschaften desselben: 1) Die Löslichkeit in Aetzammoniak. 2) Die soeben beschriebenen drei Reactionen. Zur Bestätigung dient das Verhalten gegen salpetersaures Silberoxyd in der salpetersauren sowie in der ammoniakalischen Lösung.

Steine, welche Xanthin enthalten, scheinen stets fast allein aus diesem Stoffe gebildet zu sein.

---

1) E. Fischer, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 15 S. 453.
2) E. Schmidt, Ann. Chem. Pharm. Bd. 217 S. 308.
3) Ann. Chem. Pharm. Bd. 158 S. 365.
Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 426.

Bezüglich der Gewinnung des Xanthins aus Harn siehe § 87 und aus Organen § 324.

Guanin $C_5 H_5 N_5 O$.

83. Schon vor längerer Zeit als hauptsächlicher Bestandtheil der Excremente von Spinnen bekannt, ist das Guanin, welches im Peru-Guano in wechselnder aber nicht bedeutender Menge gefunden wird, auch im Pancreas und der Leber von Menschen und Säugethieren und im Fleischextracte aufgefunden, und von Kossel allgemein als Zersetzungsproduct der Nucleïne erhalten. Häufig treten körnige Ablagerungen von Guanin in den Muskeln kranker Schweine, ebenso in ihren Gelenken und Bändern auf[1]). Guaninkalk fand Voit[2]) als irisirende Krystalle in Fischschuppen und Schwimmblase. Im Retinaepithel von Fischen ist es, nicht mit Calcium verbunden, reichlich gefunden. Die Ophthalmolithen von delle Chiaje in verschiedenen Fischen enthalten Guaninkalk wie die weissen Krystalle der Fischschuppen u. s. w.[3]).

Um aus dem Peru-Guano Guanin zu gewinnen, kocht man denselben mit verdünnter Kalkmilch aus, so lange die abfiltrirte Flüssigkeit gefärbt erscheint, kocht mit Sodalösung aus, so lange diese etwas aufnimmt; übersättigt man dann die filtrirte Flüssigkeit mit Essigsäure, so wird das Guanin mit etwas Harnsäure ausgefällt. Der entstandene Niederschlag wird mit verdünnter Salzsäure zum Kochen erhitzt, filtrirt und im Filtrate das Guanin durch Ammoniak gefällt.

Das Guanin bildet ein farbloses, gewöhnlich amorphes, in Wasser, Alkohol, Aether unlösliches, in Ammoniak schwerlösliches Pulver. In Aetzkali oder Natronlauge löst es sich leicht, ebenso in Mineralsäuren, auch in verdünnten. Es verbindet sich sowohl mit Basen als mit Säuren, kann von letzteren mit 1 oder 2 Aequivalenten Verbindungen eingehen und bildet als einfach salzsaures Salz eine Doppelverbindung mit Platinchlorid. Durch salpetersaures Silberoxyd wird es in der salpetersauren Lösung gefällt; das salpetersaure Guanin-Silber ist in kalter Salpetersäure fast unlöslich, in kochender schwer löslich und scheidet sich beim Erkalten in Krystallnadeln aus.

Durch salpetrige Säure wird es in Xanthin umgewandelt, dabei bildet sich ein Nitrokörper, der durch Eisenvitriol gleichfalls in Xanthin übergeführt wird. Auch durch Fäulniss bildet sich aus Guanin Xanthin.[4])

---

1) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 35 S. 358 u. Bd. 36 S. 147.

2) Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. 15 4. Heft 1865.

3) Kühne u. Sewall, Untersuchungen a. d. physiol. Institut zu Heidelberg. Thl. 3 S. 221. Krukenberg u. Ewald, ebendas. Thl. 4 S. 253.

4) Schindler, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 13 S. 441.

Durch Salzsäure und chlorsaures Kali wird es zu Kohlensäure, Parabansäure und Guanidin CH_5N_3 umgewandelt.

Wenn man Guanin mit rauchender Salpetersäure auf Platinblech abdampft, erhält man einen glänzenden gelben Rückstand, der durch Natron roth gefärbt wird und beim Erhitzen purpurrothe Färbung annimmt. („Xanthinprobe" vergl. § 82. Die Färbung beim Erhitzen ist hier mehr blauviolett.)

Reactionen von Capranica. Salzsaures Guanin giebt mit kalt gesättigter Lösung von Pikrinsäure erwärmt einen krystallinischen, um so langsamer entstehenden Niederschlag, je verdünnter die Lösung ist; der Niederschlag besteht aus gelben Krystallkügelchen mit Seidenglanz, er ist fast unlöslich in kaltem, wenig löslich in warmem Wasser. Diese Reaction ist ziemlich empfindlich, Adenin gibt eine ähnliche Fällung. Ferricyankalium in concentrirter Lösung giebt mit Guaninlösung sofort prismatische Krystalle von gelbbrauner Farbe, in warmem Wasser löslich. Die Reaction ist ungefähr so empfindlich wie die gegen Pikrinsäure. Eine concentrirte Lösung von chromsaurem Kali giebt mit Guanin rasch orangerothe Prismen, die in Wasser sehr wenig löslich sind. Diese Reaction ist jedoch nicht so empfindlich wie die beiden andern. Xanthin und Hypoxanthin geben sie nicht[1]). Zur Erkennung unter dem Mikroskop eignet sich das salzsaure Salz, welches in langen büschelförmig angeordneten Krystallen anschiesst, sowie das Verhalten dieser Krystalle im polarisirten Licht.[2])

Ueber die Darstellung des Guanin aus Harn siehe § 87, aus Organen § 324.

Carnin $C_7H_8N_4O_3$.

84. Das Carnin wurde von Weidel[3]) im amerikanischen Fleischextracte gefunden und dargestellt durch Fällung der wässerigen Lösung des Extracts zunächst mit Barytwasser, so lange Niederschlag entsteht, dann mit Bleiessig, Behandlung des Bleiessigniederschlags nach dem Abfiltriren mit kochendem Wasser, Filtriren, Einleiten von SH_2 in die heisse Carninbleioxydlösung, Abfiltriren des Schwefelblei, Eindampfen der abfiltrirten Flüssigkeit auf kleines Volumen und Erkaltenlassen. Das Carnin scheidet sich zuweilen schon als krümlicher noch sehr gefärbter Krystallschlamm aus. Die Flüssigkeit wird dann mit einer concentrirten Lösung von Silbersalpeter gefällt, so lange Niederschlag erfolgt, aus dem mit Wasser gewaschenen Niederschlag, welcher Chlorsilber und Carninsilberoxyd enthält, durch nicht zu viel Ammoniakflüssigkeit das

---

1) Capranica, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 233.
2) Behrens, Schiefferdecker u. Kossel, Das Mikroskop etc. 1889 S. 280.
3) Ann. Chem. Pharm. Bd. 158 S. 353.

Chlorsilber gelöst und das Carninsilberoxyd in heissem Wasser zertheilt mit SH_2 behandelt, heiss filtrirt. Das eingedampfte Filtrat liefert das Carnin noch gefärbt. Beim Entfärben mit Thierkohle bleibt ein Theil des Carnin in der Thierkohle zurück. Das benutzte Fleischextract enthielt ungefähr 1 pCt. Carnin. Von Krukenberg und Wagner[1]) ist es auch in den Muskeln einiger Süsswasserfische und im Froschfleisch, von Pouchet im menschlichen Harne gefunden.

Das Carnin bildet kreideweisse, feine und unregelmässig begrenzte krystallinische Massen, welche bei 230° sich bräunen und bei 239° verkohlen. Es löst sich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser, ist nicht löslich in Alkohol oder Aether. Die wässerige Lösung reagirt neutral, wird nicht gefällt durch neutrales essigsaures Blei, Pikrinsäure, salpetersaures Quecksilber, wohl aber von basischem Bleiacetat, wenn die Lösung nicht neutrales Bleisalz enthält. Eine Lösung von Carnin in warmer starker Salzsäure liefert beim Erkalten bald glasglänzende Nadeln von salzsaurem Carnin, löst man diese Nadeln in warmem Wasser, so scheiden sie sich zuerst als schlammiger Niederschlag aus, der allmälig wieder jene Nadeln liefert. Lösung von Platinchlorid mit salzsaurem Carnin stehen gelassen giebt goldgelbes Krystallpulver, nach Weidel $C_7 H_8 N_4 O_3, HCl, PtCl_4$ (Krukenberg und Wagner erhielten makroskopische Octaëder). Salpetersaures Silber fällt Carnin flockig weiss, der Niederschlag ist unlöslich in Salpetersäure und in Ammoniak und besteht aus $2(C_7 H_7 AgN_4 O_3) + AgNO_3$ mit 41,82 pCt. Silbergehalt. Durch Kochen mit Barytwasser wird Carnin nicht zersetzt, auch nicht beim Erhitzen mit concentrirtem Jodwasserstoff. Behandelt man aber eine heisse Lösung von Carnin mit gesättigtem Bromwasser, so zeigt sich unter Entfärbung Gasentwickelung und nach überschüssig zugesetztem Bromwasser erhält man nach dem Abdampfen und Erkalten bromwasserstoffsaures Hypoxanthin als weisses Krystallmehl.



$$C_7 H_8 N_4 O_3 + Br_2 = C_5 H_4 N_4 O, HBr + CH_3 Br + CO_2.$$

Carnin giebt die Weidelsche Reaction nicht, wenn es frei von Xanthin ist.

Paraxanthin $C_7 H_8 N_4 O_2$.

85. Dieser mit Theobromin und Theophyllin isomere Körper ist von Thudichum[2]), ausserdem von Salomon[3]) aus menschlichem Harn gewonnen und von Salomon näher untersucht. Aus 1900 Liter Harn

[1]) Sitzungsber. d. Würzburg. phys. med. Gesellsch. 1883. S. 58.

[2]) Annals of Chemical Med. London 1879. Vol. 1 p. 160.

[3]) Salomon, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 16 S. 195 u. Bd. 18 S. 3406. Zeitschr. f. klin. Med. Supplbd. 7 S. 63. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11 S. 410 u. Bd. 15 S. 319. Arch. f. pathol. Anat. Bd. 125 S. 554.

Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 13 S. 302.

sind 1 bis 1,2 gr Paraxanthin gewonnen, in einem anderen Fall aus 5 Liter 0,01 gr. Dasselbe ist in farblosen glänzenden wasserfreien Krystallen, meist 6seitigen Tafeln, die in Büscheln und Rosetten angeordnet sind, erhalten; zuweilen krystallisirt es auch mit Wasser. Schmelzpunkt 284°, bei stärkerem Erhitzen weisse Dämpfe mit Isonitrilgeruch. Es ist in kaltem Wasser schwer, wenn auch leichter als Xanthin, löslich, leichter löslich in heissem Wasser mit neutraler Reaction, unlöslich in Alkohol, Aether, dagegen löslich in Ammoniak, Salzsäure, Salpetersäure. In concentrirter Lösung fällt Natronlauge Paraxanthinnatron als lange glänzende, theils isolirte, theils in Büscheln gruppirte Tafeln; werden dieselben in Wasser gelöst und diese Lösung neutralisirt, so scheidet sich Paraxanthin krystallinisch aus. Ebenso kommt es zu einer krystallinischen Ausscheidung von Paraxanthin, wenn man die Krystalle von Paraxanthinnatrium in Lösungen von sauren Salzen oder Ammoniaksalzen einbringt. In ammoniakalischer Lösung wird Paraxanthin durch salpetersaures Silber flockig oder gelatinös gefällt und diese Niederschläge in heisser Salpetersäure gelöst, scheiden sich beim Erkalten in Krystallbüscheln ab. Pikrinsäure giebt in salzsauren Lösungen krystallinischen Niederschlag, Platinchlorid giebt orangefarbiges Doppelsalz. Kupferacetat, Phosphorwolframsäure, basisches Bleiacetat und Ammoniak, Quecksilberchlorid im Ueberschuss geben Niederschläge, salpetersaures Quecksilber nicht.

Reactionen: Die Xanthinprobe (siehe § 82 Reaction 1) tritt nicht ein, nur die Weidelsche Probe (siehe § 82) giebt positives Resultat; ausserdem ist das Verhalten gegen Natronlauge characteristisch.

Darstellungsweise aus Harn vergl. § 87.

Heteroxanthin $C_6H_6N_4O_2$ (?).

86. Das Heteroxanthin wurde von Salomon*) aus Menschenharn, dann auch aus Hundeharn gewonnen. 1000 Liter Menschenharn lieferten ungefähr 1 gr, in einem anderen Fall 5 Liter 0,01 gr. Es ist sonst nirgends gefunden.

Heteroxanthin ist ein weisses Pulver, bildet bisweilen nach längerem Stehen unter Wasser mikroskopische Krystallbüschel, beim Erhitzen verflüchtigt es sich, ohne zu schmelzen, unter Entwickelung von etwas Blausäure. Es löst sich sehr schwer in kaltem, viel leichter in heissem Wasser mit neutraler Reaction, ist unlöslich in Alkohol oder Aether, leicht löslich in Ammoniak oder Mineralsäuren und giebt mit Salzsäure eine schön krystallisirende schwerlösliche Verbindung, die schon

*) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 18 S. 3407. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11 S. 412.

durch kaltes Wasser zersetzt wird. Löst man salzsaures Heteroxanthin in erwärmter verdünnter Natronlauge, so scheiden sich nach dem Erkalten glitzernde Krystalle aus, meist schiefwinklige Tafeln (häufig Zwillingskrystalle) von Heteroxanthinnatrium. Die wässerige Lösung derselben lässt beim Neutralisiren das Heteroxanthin amorph ausfallen. Sowohl salpetersaure als ammoniakalische Lösungen werden durch salpetersaures Silber gefällt, die Niederschläge lösen sich leicht beim Erwärmen schon in sehr verdünnter Salpetersäure zu einer Flüssigkeit, aus der sich nach dem Einengen salpetersaures Heteroxanthinsilber krystallisirt abscheidet. Kupferacetat, Phosphorwolframsäure, basisches Bleiacetat und Ammoniak, Quecksilberchlorid schon in geringer Menge rufen Niederschläge hervor. Auf Zusatz von Platinchlorid zur salzsauren Lösung entsteht ein krystallisirendes Doppelsalz. Pikrinsäure giebt keinen Niederschlag.

Reactionen: Die Xanthinprobe mit Salpetersäure und Natronlauge (vergl. § 82) fällt negativ aus, die Weidelsche Probe (vergl. § 82) dagegen positiv. Verhalten gegen Natronlauge.

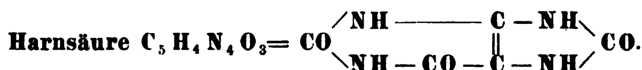
Ueber die Darstellung aus dem Harn vergl. folgenden §.

Darstellung der Nucleïnbasen sowie des Paraxanthin und Heteroxanthin aus Harn.*)

87. 500 Liter Harn oder mehr werden in einzelnen Portionen mit Ammoniak alkalisch gemacht, am nächsten Tage von den ausgeschiedenen Erdphosphaten durch Abhebern oder Filtriren befreit und mit einer etwa 3procentigen Lösung von salpetersaurem Silber gefällt. Die Niederschläge werden durch Decantiren gereinigt, in Wasser zertheilt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt, darauf die vom Schwefelsilber befreite Flüssigkeit eingeengt so weit, dass die Gesammtquantität der einzelnen Portionen ungefähr 2 Liter beträgt. Die dabei sich abscheidende Harnsäure wird abfiltrirt und das Filtrat mit Ammoniak wieder alkalisch gemacht, wobei sich ein Niederschlag von Phosphaten und oxalsaurem Kalk bildet. Die filtrirte Flüssigkeit wird mit salpetersaurem Silber gefällt, der Niederschlag wiederholt mit Wasser behandelt, decantirt und gewaschen, dann in möglichst wenig heisser Salpetersäure (spec. Gew. 1,1) unter Zusatz von etwas Harnstoff gelöst. Das heisse Filtrat scheidet beim Erkalten Hypoxanthin und Guanin, sowie etwa vorhandenes Adenin als Silberverbindungen aus, während Xanthin-, Paraxanthin- und Heteroxanthinsilbernitrat in Lösung bleiben. Aus dem Niederschlage werden die drei Körper nach § 324 isolirt. Das Filtrat übersättigt

*) Im Wesentlichen nach G. Salomon, Zeitschr. f. klin. Med. Supplbd. 7 S. 67. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 18 S. 3407.

man mit Ammoniak, wobei Xanthin, Paraxanthin nnd Heteroxanthin sich in der Silberverbindung abscheiden. Nach dem Auswaschen des Niederschlags zerlegt man denselben mit Schwefelwasserstoff, filtrirt heiss, dampft auf 100 cbcm ab, versetzt mit Ammoniak und lässt 12—24 Stunden stehn, wobei die letzten Reste von Phosphat und Oxalat sich abscheiden. Das Filtrat wird im Becherglas eingedampft bis diffuse Trübung eintritt; am nächsten Tage haben sich Xanthin und Heteroxanthin abgeschieden. Das Filtrat weiter eingedampft, eventuell nochmals filtrirt und auf wenige cbcm eingeengt, lässt Paraxanthin auskrystallisiren. Der Xanthin und Heteroxanthin enthaltende Niederschlag wird mit ziemlich viel ammoniakhaltigem Wasser behandelt, filtrirt und mässig eingedampft, nach 24 Stunden scheiden sich blättrige Krusten von Heteroxanthin ab. Die darüber stehende Flüssigkeit wird etwas weiter abgedampft, wieder stehen gelassen u. s. w. bis zuletzt die ausfallende Substanz keine Reaction gegen Natronlauge mehr giebt. Die Lösung enthält das Xanthin. Die vereinigten Ausscheidungen werden mit Hülfe von Natronlauge in wenig heissem Wasser gelöst. Nach 24 Stunden hat sich der grösste Theil des Heteroxanthin als Natriumverbindung ausgeschieden, während ein geringer Rest und Xanthin in Lösung bleiben. Reines Xanthin scheint aus Harn noch nicht dargestellt zu sein, auch scheint der Harn nur sehr wenig davon zu enthalten, nach Salomon fehlt es gelegentlich ganz.



88. Die Harnsäure ist besonders reichlich im Harne der Vögel, beschuppten Amphibien und der Insecten sowie anderer Avertebraten enthalten, in geringer Menge im Harne des Menschen und der meisten Säugethiere. Die Blasen- und Nierensteine bestehen oft fast ganz aus Harnsäure und harnsauren Salzen. In dem normalen Blute ist Harnsäure bei Hühnern von Meissner in Spuren nachgewiesen, sie findet sich im Blute reichlich nach Unterbindung der Ureteren bei Vögeln und Schlangen, auch sind die Lymphgefässe dann damit überfüllt und sie findet sich dann in jedem Organe. Bei Arthritis und Leukämie ist sie beim Menschen in Blut und Transsudaten nachgewiesen und bildet bei ersterer oft Ablagerungen in den Gelenken und am Periost der Knochen. Auch in Ascitesflüssigkeit bei Carcinom der Bauchhöhle wurde sie gefunden. In der Leber, Milz, den Lungen, Pancreas und Gehirn finden sich geringe Mengen davon beim Menschen und Rinde normal. Bender fand Harnsäure im Gesichte, auf dem Magen und der Leber einer längere Zeit begraben gewesenen Leiche.

Synthetisch wurde die Harnsäure dargestellt aus Glycocoll und Harnstoff[1]) und dann aus Isodialursäure und Harnstoff. Nach letzterer Darstellung ist sie das Diureïd der Trioxyacrylsäure[2]).

Man gewinnt die Harnsäure aus Guano, am Reinsten aus Schlangenexcrementen. Die letzteren werden in verdünnter Natronlauge gelöst, filtrirt und das Filtrat mit Kohlensäure gesättigt. Das ausgeschiedene harnsaure Natron wird mit verdünnter Salzsäure gekocht, erkalten gelassen, die ausgeschiedene Harnsäure abfiltrirt und mit Wasser gut gewaschen.

Die Harnsäure bildet ein krystallinisches farbloses Pulver, wenn sie völlig rein ist; sie fällt jedoch aus allen durch Harnfarbstoff gefärbten Flüssigkeiten oder aus dem Extracte des Guano stets gelbroth bis braun gefärbt nieder, krystallisirt im unreinen Zustande besser als nach völliger Reinigung und wird durch Kohle etc. sehr schwer entfärbt. Die Krystalle sind fast stets mikroskopische und zwar bilden sich durch Zusatz geringer Mengen Säure zur verdünnten Lösung z. B. Harn von Menschen, ebenso häufig beim Stehen des Harns rhombische Tafeln oder Säulen, oft mehrere in einander verwachsen, deren stumpfe Winkel meist stark abgerundet sind. Zuweilen zeigen sich spitzwetzsteinförmige unvollkommene Krystalle. Ist schnell durch viel starke Säure die Harnsäure abgeschieden, so stellt sie vierseitige gestreifte, oft treppenartig an einander gereihte Prismen mit ziemlich vertical zu den Prismenflächen aufgesetzter Endfläche dar[3]). Diese Krystalle sind wasserfrei, sie lösen sich in 14000 Thl. kaltem oder 1800 Thl. kochendem Wasser, gar nicht in Alkohol oder Aether. Die Harnsäure ist geschmack- und geruchlos, nicht flüchtig beim Erhitzen. Für sich erhitzt zersetzt sie sich unter Bildung von Harnstoff, Cyansäure, kohlensaurem Ammoniak, Blausäure, und es bleibt Kohle zurück. Mit concentrirter Schwefelsäure erhitzt liefert sie Ammoniak und Kohlensäure. Von heisser Salpetersäure wird sie unter Aufbrausen gelöst und zersetzt, mit verdünnter Salpetersäure abgedampft giebt sie beim Trocknen des Rückstandes einen rothen Körper, welcher durch eine Spur Aetzammoniak schön purpurroth, durch Kali- oder Natronlauge prächtig violettblau gefärbt wird (purpursaures Ammoniak oder Murexid und purpursaures Kali oder Natron). Kalte sehr starke Salpetersäure mit Harnsäure allmälig ge-

---

[1]) Horbaczewski, Monatshefte f. Chemie. Bd. 3 S. 796 u. Bd. 6 S. 352.

[2]) Behrend u. Roosen, Ann. Chem. Pharm. 1888. Bd. 251 S. 235.

[3]) Vortreffliche Abbildungen der verschiedenen Formen der Harnsäure, wie sie sich spontan oder nach Säurezusatz ausscheiden, giebt der Atlas der physiologischen und pathologischen Harnsedimente, von R. Ultzmann und K. B. Hofmann, Wien, 1872.

sättigt stehen gelassen giebt eine Krystallisation von Alloxan, verdünnte Salpetersäure bildet Alloxantin. Harnsäure in alkalischer Lösung wird durch übermangansaures Kali unter Aufnahme von 1 Atom O und 1 Mol. H_2O in Allantoin und CO_2 umgewandelt, wenn die Temperatur niedrig bleibt. Dieselbe Zersetzung erhält man durch Einwirkung von Ferricyankalium, Kupferoxydhydrat und anderen oxydirenden Stoffen auf alkalische Lösung von Harnsäure; auch durch Eisenchlorid in höherer Temperatur wird wahrscheinlich unter Reduction des Eisenchlorids zunächst Allantoin, dann Harnstoff und Oxalsäure gebildet. Mit kaltgesättigter Jodwasserstoffsäure oder Salzsäure auf 170° erhitzt zerfällt sie zu Glycocoll, Ammoniak und Kohlensäure.

Die Harnsäure löst sich sehr wenig in Aetzammoniak, aber leicht in Kali- oder Natronlauge. Sie löst sich ferner in wässerigen Lösungen neutraler borsaurer, phosphorsaurer, kohlensaurer, milchsaurer, selbst essigsaurer Alkalien (nicht in den Ammoniakverbindungen dieser Säuren), indem sie diesen Säuren einen Theil des Alkali entzieht und saures harnsaures neben saurem borsauren u. s. w. Alkali bildet. Eine Lösung von Harnsäure in Aetzalkalilauge wird durch anhaltendes Einleiten von Kohlensäure in der Kälte gefällt; der Niederschlag ist saures Alkalisalz. Beim Kochen von Harnsäure mit viel Aetzkali bildet sich Uroxansäure; dieselbe Einwirkung erfolgt langsam in verdünnter Alkalilösung schon bei Bluttemperatur*).

Die Salze der Harnsäure sind unlösliche Pulver, nur die Alkalisalze sind eben so löslich oder löslicher in Wasser als die Säure selbst. Die sog. neutralen Alkalisalze der Harnsäure z. B. $C_5H_2K_2N_4O_3$ sind leicht in Wasser löslich.

Saures harnsaures Ammoniak $C_5H_3(NH_4)N_4O_3$ ist häufig in Harnsedimenten, Blasen- und Nierensteinen enthalten, ebenso im Harne der Schlangen und Vögel. Dies Salz bildet entweder mikroskopische, an ihren Formen nicht erkennbare, jedoch eckig erscheinende Partikel oder Morgenstern-, Stechapfelformen, Kugel-, Keulen-, Rübenformen. Es löst sich in 1600 Theilen kaltem, viel leichter in warmem Wasser.

Saures harnsaures Natron $C_5H_3NaN_4O_3$. Der Hauptbestandtheil der meisten sogenannten Ziegelmehlsedimente im Harne (sedimentum lateritium), in Harnsteinen gleichfalls häufig Hauptbestandtheil, ebenso im Schlangenharn. Die weisse Masse des Harns der Vögel besteht dagegen nach Meissner im Wesentlichen aus freier Harnsäure. Die Formen, in denen dieses Salz sich ausscheidet,

*) Nencki u. Sieber, Journ. f. pr. Chem. N. F. Bd. 24 S. 498.

stimmen mit denen des harnsauren Ammoniak völlig überein. Aus eingedampften Harnrückständen scheidet sich dies Salz stets in Kugeln und Knollen aus, welche denen des Leucin sehr ähnlich sind, aber dunklere Contouren haben. Es löst sich in 1100—1200 Theilen kalten oder 125 Theilen kochenden Wasser und dieser bedeutende Unterschied in der Löslichkeit je nach der Temperatur bedingt die Ausscheidung des Salzes beim Erkalten des auch bei relativ grossem Gehalte davon klar gelassenen Harns. Es dient die leichte Löslichkeit dieser Niederschläge beim Erwärmen des Harns zur Erkennung des harnsauren Natrons.

Das saure harnsaure Kali, in jeder Beziehung dem Natronsalz ähnlich, findet sich gleichfalls meistens in Harnsedimenten, löst sich in etwa 800 Theilen kalten und 70 bis 80 Theilen kochenden Wasser.

In den Harnsedimenten kommen auch harnsaure Alkalisalze vor, welche etwas mehr oder weniger Alkali als die oben beschriebenen haben*); ein ähnliches Natronsalz, dem man die Formel $C_5 H_4 N_4 O_3 + C_5 H_3 Na N_4 O_3$ geben könnte, findet sich in den arthritischen Ablagerungen auf den Gelenkknorpeln.

So wie die Harnsäure selbst haben auch die erwähnten Salze derselben grosse Neigung, Farbstoffe aus dem menschlichen Harne bei ihrem Ausfallen mit sich niederzureissen, während die Ablagerung in den Gelenken, ebenso die Ausscheidungen bei Vögeln im Harne sowie nach Unterbindung der Ureteren derselben in den verschiedensten Organen schneeweiss erscheinen.

Durch Essigsäure oder Salzsäure werden alle erwähnten Salze leicht unter allmäligem Absatz krystallisirter Harnsäure zerlegt. Löst man Harnsäure in Natronlauge und fügt einen Ueberschuss von Chlorammonium hinzu, so bildet sich alsbald oder nach einiger Zeit ein flockiger Niederschlag von harnsaurem Ammoniak.

Versetzt man eine Lösung von Harnsäure in Natronlauge mit schwefelsaurem Kupferoxyd, so tritt besonders beim Erwärmen Reduction des Kupferoxyd zu Oxydul ein und es bildet sich ein weisser Niederschlag von harnsaurem Kupferoxydul, durch Zusatz von mehr Kupfersalz und Kochen erhält man freies Kupferoxydul. Auch Indigolösung wird durch Harnsäure in alkalischer Lösung schnell und reichlich entfärbt.

Durch basisch essigsaures Bleioxyd wird die Harnsäure aus ihren Lösungen langsam gefällt. Durch alkoholische Pikrinsäurelösung (für 100 CC. Harn 20 CC. einer 5proecntigen alkoholischen Lösung) wird die

*) Bence Jones, Chem. Centralbl. 1862. S. 872 u. R. Maly ebendas. 1863. S. 561.

Harnsäure zugleich mit Kreatinin aus dem Harne ziemlich vollständig gefällt[1]).

Die geringe Menge Harnsäure, welche in ammoniakalischer Flüssigkeit löslich ist, wird aus dieser Lösung durch ammoniakalische Silberlösung nicht gefällt, wohl aber entstehen gelatinös-flockige Ausfällungen, wenn diese Flüssigkeiten zugleich Salze der Alkalien oder alkalischer Erden enthalten, die dann entstehenden Niederschläge sind Doppelverbindungen der Harnsäure mit Silber und diesen Metallen[2]).

89. Zur **Aufsuchung** und zum **Nachweis** der Harnsäure im Harne versetzt man denselben, wenn er frei von Eiweiss und nicht sehr diluirt ist, mit Salzsäure und lässt 24 Stunden stehen; bei Gegenwart von Albumin bedient man sich besser der Essigsäure, doch ist es zweckmässiger, durch Kochen erst das Eiweiss zu coaguliren und die filtrirte, etwas eingedampfte Flüssigkeit dann mit Essigsäure zu versetzen. Verdünnte Harne werden vor dieser Behandlung zuerst auf ein kleines Volumen abgedampft und dann mit der Säure versetzt. Es ist zur Auffindung der Harnsäure wichtig, die etwa vorhandenen Sedimente zu beachten, häufig fällt im diabetischen Harne die ganze Harnsäure als sandiges, rothes Krystallpulver binnen kurzer Zeit aus und kann dann leicht übersehen werden. Wäscht man die nach 24- bis 48stündigem Stehen abgeschiedenen Harnsäurekrystalle mit Wasser, dann mit Alkohol, so wird der Farbstoff möglichst entfernt und etwa gefällte Benzoë- oder Hippursäure gelöst. Zur weiteren Reinigung kann man in wenig Natronlauge den Harnsäureniederschlag lösen, mit Chlorammonium saures harnsaures Ammoniak fällen und dies mit Salzsäure nach dem Abfiltriren zerlegen.

Um aus Blut, Lymphe, Transsudaten Harnsäure darzustellen, erhitzt man die nöthigenfalls mit Wasser verdünnte Flüssigkeit zum Sieden, filtrirt die Eiweissmassen heiss ob, dampft das Filtrat zur Trockne ein, extrahirt den Rückstand mehrmals mit kochendem Wasser, filtrirt heiss, dampft die Filtrate auf ein kleines Volumen ein, versetzt dann mit Essigsäure und lässt 24 bis 48 Stunden zur Krystallisation stehen. Die Reinigung der ausgeschiedenen Säure geschieht so, wie es oben für die aus dem Harne dargestellte Harnsäure angegeben ist.

Aus Milz, Leber u. s. w. erhält man sie ebenso durch Auslaugen der zerkleinerten Organe mit viel schwach erwärmtem Wasser, Coliren, Erhitzen zum Kochen, Abdampfen zur Trockne, Ausziehen des Rückstandes erst mit Alkohol, dann mit heissem Wasser. Aus dem letzteren

---

[1]) **Jaffé**, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 391.

[2]) **Salkowski**, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 5 S. 210. R. **Maly**, ebendas. Bd. 6 S. 201.

Extracte wird die Harnsäure gewonnen so wie es für das Blut u. s. w. oben angegeben ist.

Etwas umständlicher ist das Verfahren, nach dem es Meissner*) gelang, im Blute und der Leber von Hühnern Harnsäure aufzufinden. Das Blut (mindestens von 12 Hühnern) wurde aus den durchschnittenen Halsgefässen in eine grössere Menge Wasser unter Schlagen desselben hineinfliessen gelassen, die wässerige Lösung unter Zusatz von etwas verdünnter Schwefelsäure zum Sieden erhitzt und filtrirt. Nach mässiger Concentration derselben auf dem Wasserbade wurde mit Barytwasser ausgefällt und nach dem Filtriren der Baryt durch vorsichtigen Zusatz von verdünnter Schwefelsäure gerade ausgefällt. Die abfiltrirte klare Flüssigkeit (wenn etwa 400 CC. Blut in Arbeit genommen war) auf ungefähr 10 bis 15 CC. eingedampft, dann mit absolutem Alkohol ausgefällt, gab einen schmierigen, braunen Niederschlag, welcher von der Lösung getrennt, in etwas Wasser unter Erwärmen gelöst wurde; gab die Lösung dann bei Neutralisation mit Salzsäure und Stehen keinen Niederschlag, so wurde weiter eingedampft und wieder stehen gelassen. Der braune amorphe Niederschlag von harnsaurem Alkali konnte endlich abfiltrirt und durch Einbringen in verdünnte Salzsäure in schöne Krystalle von Harnsäure verwandelt werden.

Nach dem gleichen Verfahren fand Meissner Harnsäure in dem wässerigen Extracte zerkleinerter Hühnerlebern, während es in Muskeln und Lunge nicht gelang sie nachzuweisen.

Hat man nach den beschriebenen Methoden eine Substanz als Niederschlag von mehr oder weniger deutlicher krytallinischer Form erhalten, so prüft man 1) zunächst die Form und Farbe der Krystalle unter dem Mikroskope. Die Färbung der Harnsäurekrystalle ist fast immer gelb bis dunkelbraun, ihre Form dagegen sehr wechselnd, Wetzstein-, Tonnenform, rhombische Tafeln, gestreifte Prismen u. s. w.

2) Prüft man einen Theil der Masse mittelst Salpetersäure und Ammoniak.

Murexidprobe.

Man bringt ein Wenig der zu prüfenden Substanz auf einen Porzellantiegeldeckel oder eine kleine Porzellanschale, fügt ein paar Tropfen Salpetersäure hinzu, erhitzt und verdampft dann bei mässiger Wärme unter Blasen zur völligen Trockne. Besteht die Masse aus Harnsäure, so wird sie sich in der Salpetersäure lösen und beim Abdampfen eine gelbliche, beim völligen Trocknen eine rothe Masse geben, und es wird diese Masse prachtvoll purpurroth, wenn man einen Tropfen

*) Zeitschr. f. rat. Med. 1868. Bd. 31 S. 146.

Aetzammoniak von der Seite hinzufliessen lässt, sie wird dagegen blauviolett, wenn man statt dessen oder nachher einen Tropfen Kali- oder Natronlauge zufliessen lässt. Jeder Ueberschuss von Ammoniak oder fixer Alkalilauge ist ebenso zu vermeiden, als zu starkes Erhitzen beim Abdampfen und Trocknen der Lösung der Substanz in Salpetersäure.

3) Man erhitzt eine Probe mit wenig verdünnter Salpetersäure bis zum Aufbrausen, verjagt vorsichtig die überschüssige Säure ohne bis zum Auftreten der Färbung zu trocknen, fügt dann 2—3 Tropfen concentrirte Schwefelsäure und einige Tropfen käuflichen (thiophenhaltigen) Benzols hinzu. Es entsteht blaue Färbung, welche nach Verdunsten des Benzols in Braun übergeht, dann auf Zusatz von Benzol wieder auftritt (Alloxanreaction)[1]).

4) Zur Bestätigung lässt sich noch das Verhalten der Harnsäure gegen Natronlauge und Ammoniak andererseits benutzen. Man löst eine nicht zu kleine Portion in wenig Natronlauge, filtrirt, wenn etwas ungelöst blieb, versetzt das Filtrat mit Chlorammonium im Ueberschusse und lässt, wenn nicht sofort ein Niederschlag entstand, einige Zeit stehen. Es wird sich, wenn die Flüssigkeit nicht ausserordentlich verdünnt ist, ein flockiger Niederschlag von saurem harnsauren Ammoniak gebildet haben, der in Aetzammoniak nicht löslich ist und auf Zusatz von überschüssiger Salzsäure sich allmählig wieder in Krystalle freier Harnsäure umwandelt.

5) Auch das Verhalten der Harnsäure gegen Natronlauge und etwas Lösung von schwefelsaurem Kupferoxyd (siehe oben) kann man zur Bestätigung benutzen.

Oxalursaures Ammoniak $C_3H_3(NH_4)N_2O_4$ ist von Schunk[2]) als Bestandtheil des normalen menschlichen Harns erkannt und dies Vorkommen von Neubauer[3]) bestätigt. Zu seiner Gewinnung aus Harn lässt man denselben auf gekörnte Thierkohle, wie sie in den Zuckerfabriken angewendet wird, auftropfen. Diese Thierkohle befindet sich in einer pipettenartig geformten unten ausgezogenen Glasröhre und ist überdeckt mit einem Stück Leinwand, welches Epithelien, Schleim etc. zurückhält und öfter gewechselt wird. Durch einen Quetschhahn regulirt man das Auftropfen in der Weise, dass in 24 Stunden etwa 20 Liter Harn die Kohle passiren. Hört die entfärbende Kraft der Kohle auf, so füllt man die Pipette mit neuer Kohle. Die Kohle wird dann mit destillirtem Wasser gewaschen, bis das Filtrat weder Chlor noch Phosphorsäure mehr enthält, dann an der Luft getrocknet und nun mit Alkohol ausgekocht, bis dieser sich nicht mehr gelb färbt. Von diesen alkoholischen Filtraten wird der grösste Theil des Alkohol abdestillirt, der Rückstand in einer Porzellanschale auf dem Wasserbade verdampft. Der zurückbleibende Syrup wird mit Wasser behandelt filtrirt, das Filtrat zum Syrup

---

[1]) Denigès, Journ. de chim. et de pharm. T. 18 p. 161.

[2]) Proceed. of the royal soc. T. 16 p. 140.

[3]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Jahrg. 7 S. 225.

verdunstet und dieser zur Krystallisation stehen gelassen. Durch Dialyse kann das oxalursaure Ammoniak weiter gereinigt werden und endlich werden die aus dem Diffusat beim Verdampfen erhaltenen Krystalle mit etwas absolutem Alkohol abgespült und in heissem Wasser gelöst mit sehr wenig gereinigter Thierkohle behandelt; beim Verdunsten des Filtrats bleibt saures oxalursaures Ammoniak zurück. Aus 100 bis 150 Liter Urin erhielt Neubauer hinreichende Quantität, um die charakteristischen Eigenschaften des oxalursauren Ammoniak an der Substanz zu prüfen; die Ausbeute ist also sehr gering.

Aus Harnsäure stellt man oxalursaures Ammoniak durch Lösen in warmer sehr verdünnter Salpetersäure, Uebersättigen nach dem Erkalten mit Ammoniak und Eindampfen zur Krystallisation dar. Parabansäure in wässeriger Lösung mit Ammoniak gekocht liefert gleichfalls oxalursaures Ammoniak.

Oxalursaures Ammoniak ist in Wasser sehr schwer löslich, die heisse Lösung giebt mit salpetersaurem Silber einen nach dem Erkalten sich ausscheidenden Niederschlag in seideglänzenden Nadeln von oxalursaurem Silber, in heissem Wasser oder Ammoniak löslich, ferner giebt die Lösung des Ammoniaksalzes in heissem Wasser mit verdünnter Salpetersäure einen feinpulverigen krystallinischen Niederschlag von Oxalursäure. Wird die Oxalursäure mit verdünnter Säure gekocht, so spaltet sie sich in Harnstoff und Oxalsäure. Versetzt man eine concentrirte Lösung von oxalursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium oder Chlorzink, so scheiden sich beim längeren Stehen die Salze dieser Basen in charakteristischen mikroskopischen Krystallen aus. Wird eine Lösung von oxalursaurem Ammoniak mit Chlorcalcium und Ammoniak erwärmt, so scheidet sich schon ehe die Siedehitze erreicht ist, oxalsaurer Kalk bei genügender Verdünnung der Lösung in schönen mikroskopischen Octaedern aus. Concentrirte Lösung von oxalursaurem Ammoniak giebt mit essigsaurem Blei versetzt nach kurzer Zeit eine Trübung und einen pulverig-krystallinischen Niederschlag von oxalursaurem Blei.

Das unreine oxalursaure Ammoniak bildet kleine Krystallbüschel oder kugelige Aggregate, an der Oberfläche mit feinen Krystallnadeln besetzt.

Die obige von Neubauer beschriebene Darstellungsmethode aus dem Harne sowie die genannten Reactionen können zum Nachweise allein dienen.

Der Ansicht von Schunk, dass die allmälig sich abscheidenden oxalsauren Kalksedimente im Harne ihre Entstehung der Zerspaltung von oxalursaurem Ammoniak verdankten, trat Neubauer entgegen, weil er fand, dass letzteres Salz im Harne lange Zeit unverändert bestehen kann, bei der alkalischen Gährung aber die Oxalursäure verschwindet, ohne dass Oxalsäure nachzuweisen ist.



90. Das Allantoïn wurde zuerst in der Allantoïsflüssigkeit des Kalbes, später auch im Harne des neugeborenen Kalbes, ferner im Kindswasser und im Harne neugeborener Kinder innerhalb der ersten acht Tage nach der Geburt gefunden. Nach Gusserow und Hermann ist Allantoïn im normalen menschlichen Harne in geringer Menge enthalten, reichlicher im Harne von Schwangeren. In Ascitesflüssigkeit

ist Allantoïn bei Lebercirrhose gefunden.[1]) Im Harne von Hunden und anderen Thieren findet sich nach Meissner häufig Allantoïn in geringer Menge. Im Hundeharn ist es bei Fleischkost nicht constant, zuweilen reichlicher. Nach Einführung von Harnsäure in den Magen findet sich Allantoïn im Harne[2]). Auch in Pflanzen und zwar in Platanensprossen ist von Schulze und Barbieri[3]) Allantoïn aufgefunden, in Weizenkeimen von Richardson und Crampton[4]) nachgewiesen.

Man stellt Allantoïn am Besten dar[5]) dursch vorsichtigen Zusatz von übermangansaurem Kali 1 Mol. zu Harnsäure 3 Mol. in Wasser zertheilt bei gewöhnlicher Temperatur unter Vermeidung jeder Erwärmung. Man filtrirt dann schnell das Manganhyperoxyd ab, übersättigt mit Essigsäure und lässt 24 Stunden zur Krystallisation stehen. Auch durch Bleihyperoxyd, Kupferoxydhydrat, Ferricyankalium, Ozon wird aus Harnsäure Allantoïn neben CO_2 gebildet. Synthetisch ist Allantoïn dargestellt von Grimaux[6]) durch längeres Erhitzen von Glyoxylsäure mit Harnstoff bei 100°.

Das Allantoïn krystallisirt in glänzenden durchsichtigen kleinen Prismen, ist geruch-, geschmacklos und ohne Reaction auf Lackmus, in 160 Theilen kaltem Wasser, viel leichter in heissem Wasser löslich, unlöslich in kaltem absoluten Alkohol oder Aether, in heissem Alkohol ziemlich löslich. In Lösungen kohlensaurer Alkalien wird es leichter gelöst. Beim Erhitzen verkohlt Allantoïn ohne zu schmelzen unter Entwickelung ammoniakalischer Dämpfe. Es verbindet sich nicht mit Säuren, wohl aber mit Metallen. Durch ammoniakalische Silberlösung wird es aus seinen concentrirten Lösungen gefällt; die niederfallenden weissen Flocken bestehen aus Allantoïn-Silberoxyd; beim Stehen wandeln sich dieselben in Körner um, trocknet man sie bei 100°, so tritt leicht Reduction von Silber ein. Auch Blei- und Kupferverbindungen des Allantoïn sind leicht zu erhalten. Durch salpetersaures Quecksilberoxyd wird Allantoïn gleichfalls gefällt. Durch Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure wird Allantoïn in Ammoniak, Kohlensäure und Kohlenoxyd, durch Kochen mit Barytwasser in Kohlensäure, Ammoniak, Oxalsäure und Hydantoïn, durch concentrirte Alkalilauge in Ammoniak, Essigsäure und Oxalsäure, durch kochende Salpetersäure in Harnstoff und

---

1) Moscatelli, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 13 S. 202.
2) Salkowski, Ber. d deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 9 S. 719 u. Bd. 11 S. 500.
3) Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 25 S. 145.
E. Schulze u. Bosshard, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 420.
4) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 19 S. 1180.
5) Ad. Claus, ebendas. Bd. 7. S. 227.
6) Compt. rend. T. 83 p. 62.

Allantursäure verwandelt. Durch unterbromigsaures Natron wird die Hälfte des Stickstoffgehaltes in Freiheit gesetzt.[1])

Um Allantoïn in Flüssigkeiten aufzusuchen, ist es zweckmässig, durch Kochen und Filtriren erst die Eiweissstoffe zu entfernen, dann mit salpetersaurem Quecksilberoxyd zu fällen, den ausgewaschenen Niederschlag in Wasser zertheilt mit Schwefelwasserstoff zu zerlegen, zu filtriren, nach Zusatz von etwas Ammoniak auf dem Wasserbade auf ein sehr kleines Volumen zu verdunsten und dann die klare Flüssigkeit mit ammoniakalischer Lösung von salpetersaurem Silberoxyd zu fällen. Man lässt einige Zeit stehen, sammelt das ausgeschiedene Allantoïn-Silberoxyd auf dem Filter, wäscht gut aus, trocknet mit der Luftpumpe über Schwefelsäure einen Theil und wägt, verascht und wägt das zurückbleibende Silber. Das trockene Allantoïn-Silberoxyd soll nach der Formel 40,75 pCt. Ag geben. Aus der übrigen Silberverbindung kann durch Schwefelwasserstoff das Silber abgeschieden und beim Abdampfen der filtrirten Flüssigkeit das Allantoïn krystallisirt erhalten werden.

Meissner[2]) giebt folgende Methode an zur Abscheidung des Allantoïn aus Harn: Der Harn wird mit Barytwasser ausgefällt, der gelöste Baryt mit Schwefelsäure unter sorgfältiger Vermeidung eines Ueberschusses gefällt, das alkalische Filtrat dann mit concentrirter Quecksilberchloridlösung versetzt, so lange Niederschlag entsteht (dabei wird die Reaction sauer), neutralisirt durch Aetzkali und nun noch Quecksilberchlorid hinzugefügt, so lange Niederschlag erfolgt. Sowohl im Niederschlage, der in saurer Lösung entstanden ist, als auch in dem nach Neutralisation erhaltenen befindet sich das Allantoïn; sie werden in Wasser zertheilt, das Quecksilber durch Schwefelwasserstoff entfernt, filtrirt. Aus dem dann eingedampften Filtrate scheidet sich das Allantoïn krystallisirt aus.

Beim Fällen von eingedampftem Harn mit Alkohol geht stets ein Theil des Allantoïn in die alkoholische Lösung über, durch Aether wird es aus derselben ausgefällt.

Protamin.

91. Das Protamin wurde von F. Miescher[3]) in Verbindung mit Nuclein in den Spermatozoen des Rheinlachses gefunden und zwar in den trocknen Samenfäden zu 26,8 pCt. Dasselbe tritt darin aber erst unmittelbar vor der Geschlechtsreife in der Drüse auf (mit November)

[1]) Malerba, Gazz. chim. Vol. 15 p. 531.

[2]) Zeitschr. f. rat. Med. Bd. 31 S. 304. Anm.

[3]) F. Miescher, Verhandl. der naturforsch. Gesellsch. in Basel. VI. 1 Heft 1874. S. 153 und Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 7. S. 376.

und ist in dem Samen anderer Thiere noch nicht gefunden. Zur Darstellung wurden die isolirten Samenfäden oder die zerriebene Drüsensubstanz zunächst mit heissem Alkohol zur Entfernung von Fett, Lecithin u. s. w. erschöpft, der Rückstand mit sehr verdünnter Salzsäure rasch extrahirt, im Filtrate der Säureüberschuss grösstentheils abgestumpft und mit Platinchlorid gefällt. Das als Platindoppelsalz gefällte Protamin bildet zunächst einen gelben harzigen Niederschlag, der beim längeren Stehen unter der Flüssigkeit körnig krystallinisch wurde. Er löst sich in überschüssiger Salzsäure, aber weder in Wasser noch Alkohol, Aether, Benzol u. s. w. Enthält der Niederschlag etwas Phosphor von Zersetzung des Nuclein, so zersetzt man das Salz mit SH_2 und fällt zum zweiten Male mit Platinchlorid. Das Platindoppelsalz ist bei 105° leicht ohne Zersetzung zu trocknen, giebt im trocknen Luftstrome bei 100° keinen ClH ab, zersetzt sich aber unter Schmelzen bei 120°. Man kann auch nach der Behandlung des Samens mit heissem Alkohol, mit verdünnter Salpetersäure das Protamin extrahiren und nach Abstumpfung der Säure mit Quecksilbernitrat fällen, aber nach Piccard*) enthält dieser Niederschlag neben Protamin noch Guanin und Hypoxanthin. Piccard findet die Zusammensetzung des Platindoppelsalzes vorläufig zu $PtCl_4 + 2(HCl. C_8 H_{16} N_{4\frac{1}{2}} O_2)$. Das reine Protamin hat so wenig als seine Salze bis jetzt unverkennbare Krystalle gegeben. Das salpetersaure sowie das salzsaure Protamin lösen sich leicht in Wasser, schwer in Alkohol, nicht in Aether, besitzen einen eigenthümlichen adstringirenden bitter-süssen Geschmack. Durch Phosphormolybdänsäure, Jodquecksilber, Jodkalium, Platincyankalium, Ferricyankalium entsteht weisse milchige Trübung in den Lösungen der Protaminsalze; auch $HgCl_2$ giebt milchige Trübung. Silbernitrat giebt flockigen Niederschlag, ammoniakalische Silberlösung giebt keine Fällung.

Aus dem Phosphormolybdänsäureniederschlage erhält man durch Behandlung mit Barytwasser und Entfernung des Barytüberschusses durch CO_2 die freie Base, die in Wasser mit alkalischer Reaction, in Aether oder Alkohol nicht löslich ist.

Eine Lösung von Nuclein in Ammoniak giebt mit der Lösung eines Protaminsalzes einen schweren pulverigen Niederschlag, der aus mikroskopischen Körner- und Kugelaggregaten besteht und Nuclein in Verbindung mit Protamin enthält.



Glycocoll $C_2H_5NO_2 = NH_2 - CH_2 - COOH$.

92. Glycocoll, auch Leimzucker oder Glycin genannt, bildet sich bei Zersetzung der Hippursäure, Glycocholsäure, der Harnsäure, des

*) J. Piccard, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 7. S. 1714.

Adenins, Xanthins, des Leims und der Substanz des Badeschwamms mit Säuren oder Alkalien.

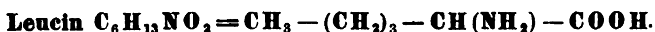
Man stellt Glycocoll am Zweckmässigsten aus Hippursäure durch Kochen mit Salzsäure dar (vgl. unten Darstellung der Benzoësäure). Nach Ausfällung der Benzoesäure dampft man die Flüssigkeit zur Trockne ein, löst den Rückstand in wenig Wasser, filtrirt etwa ungelöst bleibende Benzoësäure ab, kocht das Filtrat mit Bleioxydhydrat kurze Zeit, filtrirt, scheidet durch Schwefelwasserstoff das gelöste Blei ab und dampft die klare filtrirte Flüssigkeit zur Krystallisation ein.

Glycocoll kann auch künstlich durch Einwirkung von Ammoniak auf Monobromessigsäure oder durch manche andere Reaction erhalten werden, besonders durch Einwirkung von concentrirtem Jodwasserstoff auf Cyangas in der Hitze, ferner durch Einwirkung desselben auf Tricyanwasserstoff oder endlich auf Harnsäure. Es bildet farblose, oft grosse, harte monokline Krystalle von rhomboëdrischer Form oder vierseitige Prismen, von süssem Geschmacke, bei 228° sich bräunend, bei 232—236° unter Gasentwickelung schmelzend und sich zersetzend. Sie lösen sich in 4,3 Theilen kaltem Wasser, schwer in heissem Weingeist, sind unlöslich in kaltem Alkohol oder Aether; die Lösungen haben saure Reaction; Glycocoll verbindet sich mit Metalloxyden und Säuren und krystallisirt aus Lösungen, die neutrale Alkalisalze enthalten, leicht mit diesen in Verbindung. Mit Eisenchlorid färbt sich seine Lösung roth. Siedende Lösung von Glycocoll löst Kupferoxydhydrat zu einer blauen Flüssigkeit auf, welche concentrirt beim Erkalten dunkelblaue Nadeln von Glycocoll-Kupferoxyd ausscheidet. Diese Kupferverbindung ist in Alkohol unlöslich. Ebenso löst Glycocoll im Sieden der Lösung Silberoxyd. Mit überschüssiger Salzsäure abgedampft giebt es in Wasser oder Alkohol sehr leicht lösliche Krystalle von der Zusammensetzung $C_2H_5NO_2, ClH$. Kupferoxydul wird von Glycocolllösung gelöst. Es wird durch salpetersaures Quecksilberoxyd oder Quecksilberchlorid nicht gefällt, ebenso nicht durch Phosphorwolframsäure. Durch salpetrige Säure wird es in Glycolsäure, Stickstoff und Wasser zerlegt. Fermente scheinen eben so wenig, als Kochen mit verdünnter Alkalilauge oder Säuren auf das Glycocoll einzuwirken. In der Hitze zersetzt sich Glycocoll zu Methylamin und Kohlensäure, besonders beim Erhitzen mit Aetzbaryt.

Die Leichtlöslichkeit des Glycocoll in Wasser, Unlöslichkeit in Alkohol und Aether, sowie die grosse Löslichkeit der salzsauren Verbindung in Alkohol machen es bei nicht zu geringer Menge des Untersuchungsmaterials ziemlich leicht, das Glycocoll von den anderen Stoffen zu trennen, mit denen es in gemeinschaftlichen Lösungen gefunden wird.

Die Krystallisation, der süsse Geschmack, das Verhalten der Lösung gegen Kupferoxydhydrat sind die hauptsächlichsten Anhaltspunkte zur Erkennung.

Amidovaleriansäure $C_5H_{11}NO_2$ wurde von Gorup Besanez aus Milz und Leber vom Rinde neben Leucin gewonnen, von E. Schulze und Barbieri[1]) aus Keimlingen von Lupinus luteus und von Horbaczewski[2]) ein gleich zusammengesetzter Körper aus Elastin bei seiner Behandlung mit Salzsäure und Zinnchlorür erhalten.



Leucin $C_6H_{13}NO_2 = CH_3-(CH_2)_3-CH(NH_2)-COOH$.

93. Das Leucin ist ein constantes Pankreasverdauungs und Fäulnissproduct der Albumin- und Leimstoffe; es bildet sich aus diesen Körpern, sowie aus Horn auch durch Behandlung mit Aetzalkalien oder Kochen mit Schwefelsäure oder besser Salzsäure. Im Schmutze auf der Haut (gefaulter Epidermis), in der Schafwolle, Ichthyosisschuppen, Atherombälgen findet es sich neben Tyrosin. Im Harne findet es sich nur in bestimmten Fällen von Lebererweichung, in diesen aber sehr reichlich. Im ganz frischen Eiter ist es oft gefunden. Bei Insecten, Spinnen und Krebsen ist sein Vorkommen constatirt, auch in Pflanzen ist Leucin gefunden, z. B. in frisch gekeimten Wicken.

Um das Leucin rein zu gewinnen, ist nur die synthetische Darstellung durch Einwirkung von Ammoniak auf Bromcapronsäure zu empfehlen.[3])

Aus Hornspähnen oder Nackenband vom Rind stellt man das Leucin durch 24stündiges Kochen von 2 Theilen Hornspähnen mit 5 Theilen Schwefelsäure, die mit 13 Theilen Wasser verdünnt ist, unter häufigem Ersatze des verdampfenden Wassers dar. Man filtrirt, nachdem man die noch heisse Flüssigkeit mit Kreide übersättigt hat, und dampft das Filtrat auf die Hälfte ein, fällt den gelösten Kalk mit Oxalsäure aus, filtrirt und dampft nun zur Krystallisation ab. Die Trennung von dem fast immer gleichzeitig gebildeten Tyrosin ist quantitativ kaum ausführbar.

Hlasiwetz und Habermann[4]) wandten mit Vortheil folgendes Verfahren zur Trennung von Leucin und Tyrosin und zur Reinigung des Leucin an. Das Gemenge wird in kochendem Wasser unter Zusatz von ein Wenig Ammoniak gelöst, die heisse Lösung so lange mit Bleiessig unter Umrühren versetzt, bis der nun entstehende Niederschlag nicht

[1]) Journ. f. pract. Chem. Bd. 27 S. 337.
[2]) Monatshefte f. Chem. Bd. 6 S. 639.
[3]) Hüfner, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 1 S. 6.
[4]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 169 S. 160.

mehr bräunlich, sondern weiss ausfällt, nach dem Filtriren wird nahe zum Sieden erhitzt, mit verdünnter Schwefelsäure das Ammoniak gesättigt und Blei ausgefällt, schnell filtrirt. Beim Erkalten fällt das Tyrosin fast quantitativ aus. Die Lösung wird nun durch Schwefelwasserstoff von Blei befreit und eingeengt, dann in die siedende Lösung frisch gefälltes Kupferoxydhydrat im Ueberschuss eingetragen und damit kurze Zeit kochen gelassen. Der Niederschlag enthält einen Theil des Leucin, der durch Zersetzung des in kochendem Wasser zertheilten Niederschlags mit SH_2, Zusatz von ein Wenig Essigsäure, Abfiltriren des Schwefelkupfers, Entfärben mit Thierkohle, Abdampfen auf kleines Volumen und Erkaltenlassen sehr rein gewonnen wird. Der andere Theil des Leucin ist in der lasurblauen Lösung, die beim Kochen mit Kupferoxydhydrat gewonnen war, enthalten. Diese Lösung giebt beim Abdampfen und Stehenlassen bald himmelblaue Warzen der Kupferoxydverbindung des Leucin. Aus dieser Lösung wird durch die obige Behandlung mit SH_2 u. s. w. das Leucin in büschelförmig gruppirten Nadeln, also nicht so rein erhalten als aus dem Kupferoxydniederschlag. Auch durch Umkrystallisiren aus ammoniakhaltigem Alkohol kann Leucin gereinigt werden.

Das Leucin bildet glänzende, weisse, ausserordentlich dünne und leichte Krystallblättchen, die sich mit Wasser nur sehr langsam benetzen. Es löst sich in etwa 46 Theilen kaltem, leichter in heissem Wasser, in 1040 Theilen kaltem und 800 Theilen siedendem Alkohol. Das auf 150—160° mit concentrirter Aetzbarytlösung erhitzte und dadurch optisch inactiv gewordene Leucin löst sich viel schwerer in Wasser; 1 Th. in 102 Th. Wasser bei 21°. Wenn das Leucin unrein ist, so wie man es aus thierischen Flüssigkeiten fast allein gewinnt, ist es viel leichter löslich in Wasser und insbesondere auch löslicher in Weingeist. Es krystallisirt aus diesen Lösungen in runden Kugeln und Knollen, die ziemlich schwach lichtbrechend sind und sich hierin von den sonst ähnlichen Abscheidungen harnsaurer Salze unterscheiden, da deren Contouren sehr dunkel und scharf erscheinen. Die Kugeln und Knollen des Leucin zeigen sich entweder ganz hyalin oder sie zeigen radiale Streifung oder bestehen deutlich aus radial gruppirten sehr dünnen Blättchen.

In Alkalien, auch Ammoniak, ebenso in verdünnten Säuren löst sich Leucin leicht auf. In concentrirter Schwefelsäure oder Salzsäure wird es auch ohne Zersetzung gelöst. Vorsichtig auf 170° erhitzt, schmilzt es und sublimirt grösstentheils unzersetzt, beim schnellen Erhitzen über 170° zersetzt es sich unter Entwickelung von Kohlensäure, Ammoniak und Amylamin. Das Leucin verhält sich gegen Säuren,

Basen und Salze dem Glycocoll völlig analog, löst Kupferoxydhydrat, ohne es beim Kochen zu reduciren. Beim Kochen von Leucin mit Kupferoxydhydrat oder essigsaurem Kupferoxyd bilden sich Kupferverbindungen mit variablem Kupfergehalt. Das Leucin verbindet sich mit Säuren zu krystallisirbaren Verbindungen, durch salpetrige Säure wird es in Leucinsäure, Wasser und Stickstoff zerlegt, durch faulende Stoffe wird es in wässeriger Lösung in Baldriansäure und Ammoniak unter Wasseraufnahme umgewandelt; dieselbe Verwandlung erleidet es, wenn man es mit Aetzkali zum Schmelzen erhitzt.

Das aus Bromcapronsäure und das aus Valeraldehyd synthetisch dargestellte Leucin zeigt keine Circumpolarisationserscheinungen, dagegen hat sich das aus Caseïn durch Einwirkung von Salzsäure erhaltene Leucin in saurer und alkalischer Lösung als rechtsdrehend erwiesen; in salzsaurer Lösung von 10 pCt. Gehalt[1]) $(\alpha)_D = + 17{,}54^0$, ebenso in gleicher Weise aus Conglutin dargestellt[2]) (15—19 pCt. Gehalt) $(\alpha)_D = +17{,}3^0$, aus Caseïn in alkalischer Lösung[1]) (10 pCt. Gehalt) $(\alpha)_D = + 6{,}65^0$. In neutraler Lösung ist es inactiv.[3]) Wird rechtsdrehendes Leucin mit Aetzbarytlösung einige Zeit auf 150 bis 160^0 erhitzt, so ergiebt es sich dann als optisch inactiv.[2]) Durch Einwirkung von Penicillium glaucum auf dieses inactive Leucin wurde ein in salzsaurer Lösung linksdrehendes Leucin[4]) $(\alpha)_D = - 17{,}5^0$ erhalten. Aus Elastin und anderen Eiweissstoffen war durch Kochen mit Schwefelsäure optisch inactives Leucin dargestellt[5]), aus Rübenmelasse ein rechtsdrehendes[6]) (2,371 pCt. Gehalt in Natronlauge gelöst) $(\alpha)_D = + 8{,}05^0$.

Um in Gewebsflüssigkeiten Leucin nachzuweisen, zerkleinert man die Organe am Besten mit der Fleischschneidemaschine, extrahirt sofort mit kaltem Wasser, colirt, presst den Rückstand in einer starken Presse aus, extrahirt nochmals mit Wasser, colirt und presst aus. Die colirten Flüssigkeiten werden durch Kochen, schwaches Ansäuern mit Essigsäure und Filtriren von Albuminstoffen befreit, dann nach der oben beschriebenen, von Hlasiwetz und Habermann empfohlenen Methode behandelt.

Um sich zu vergewissern, dass die erhaltenen Kugeln, Knollen oder Blättchen aus Leucin bestehen (diese Formen haben so wenig Charakteristisches, dass sie durchaus nicht als hinreichendes Kennzeichen

---

1) Mauthner, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 223.
2) E. Schulze, ebendas. Bd. 9 S. 63.
3) Lewkowitsch, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 17 S. 1439.
4) E. Schulze u. Bosshard, ebendas. Bd. 10 S. 134.
5) Erlenmeyer u. Hell, Ann. Chem. Pharm. Bd. 160 S. 285.
6) v. Lippmann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 17 S. 2838.

des Leucin gelten können), ist es zweckmässig, dieselben durch Auspressen zwischen Papier möglichst zu reinigen, aus kochendem Alkohol umzukrystallisiren und folgende Proben mit den wieder erhaltenen Körnern oder Blättchen vorzunehmen.

1) Scherer's Probe: Man verdampft eine kleine Portion derselben mit Salpetersäure vorsichtig auf Platinblech: Bestand die Probe aus Leucin, so bleibt ein ungefärbter, fast unsichtbarer Rückstand, der mit einigen Tropfen Natronlauge erwärmt, je nach der Reinheit des Leucin sich weniger oder mehr gelb bis braun färbt und beim weiteren Concentriren durch Erhitzen über der Flamme sich bald zu einem ölartigen, auf dem Platinbleche ohne Adhäsion herumrollenden Tropfen zusammenzieht.

2) Eine Probe wird im trockenen Probirglase über der Flamme erhitzt. Besteht dieselbe aus Leucin, so schmilzt sie unter Entwickelung eines in öligen Tropfen sich abscheidenden Körpers und Geruch nach Amylamin, zugleich sublimirt ein Theil des Leucin in weissen wolligen Flocken, die sich an der Glaswandung niederschlagen. Diese Probe gelingt noch mit sehr kleinen Quantitäten, wenn das Leucin nicht sehr unrein ist.

Leucinimid $C_6H_{11}NO$.

Das Leucinimid wurde bei der Darstellung von Leucin aus faulenden Albuminstoffen von Bopp[1]) zuerst erhalten und durch Alkohol aus dem hauptsächlich aus Tyrosin bestehenden Rückstande ausgezogen. Später wurde es in reinem Zustande dargestellt von Ritthausen und Kreusler durch Einwirkung von Schwefelsäure auf Pflanzenproteïnstoffe in geringer Menge. Es ist ein in voluminösen, farblosen, in Alkohol leicht löslichen, beim Erhitzen unzersetzt sublimirenden Nadeln krystallisirender Körper, der auch künstlich durch Einwirkung von wasserfreier Salzsäure auf Leucin erhalten ist. Bei der Darstellung aus Horn oder Albuminstoffen soll es erst beim häufigen Abdampfen der Lösungen des Leucin aus diesen gebildet werden.

Einen Körper von der Zusammensetzung $C_4H_9NO_2$ hat Theile bei Zersetzung von Vitellin mit Kalilauge erhalten; derselbe ist in Alkohol unlöslich und schwierig krystallisirbar.

Tyroleucin $C_7H_{11}NO_2$, Leuceïne.

Tyroleucin ist von Schützenberger[2]) ein Körper genannt, den er gemengt mit Butalanin durch Erhitzen von Albumin mit gesättigter Barytlösung auf 130° erhalten hat. Das Tyroleucin bildet weisse Kugeln, löst sich bei 16° 5,3 Theile in 100 Thl. Wasser, in heissem Wasser leichter, auch in heissem Alkohol ist es löslicher als in kaltem; es ist wahrscheinlich eine Verbindung von Amidovaleriansäure mit Phenylamidopropionsäure.[3])

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 49 S. 16.

[2]) Compt. rend. T. 84 p. 124.

[3]) E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 122.

Leuceïne hat **Schützenberger** Stoffe genannt, welche er beim Erhitzen von Eiweiss mit Barythydrat und Wasser im geschlossenen Gefäss auf 150—200° während mehrerer Tage neben NH_3, CO_2, Oxalsäure, Essigsäure, Tyrosin und Leucin erhalten hat, von der Zusammensetzung $C_n H_{2n-1} NO_2$. Es sind dies wahrscheinlich ebenfalls Gemenge von Amidovaleriansäure und Phenylamidopropionsäure.*)

Taurin $C_2H_7NSO_3 = NH_2 - CH_2 - CH_2 - SO_2 - OH$.

94. Das Taurin, früher nur als Zersetzungsproduct der Taurocholsäure in der Galle bekannt, ist dann bei verschiedenen, besonders kaltblütigen Thieren in der Muskelflüssigkeit und in dem Safte der Lunge gefunden.

Aus der Rindsgalle erhält man es am Reichlichsten durch Kochen der Galle mit verdünnter Salzsäure mehrere Stunden lang, Abfiltriren der wässerigen Flüssigkeit von den harzartig ausgeschiedenen Gallensäuren, Eindampfen zur Trockne, Ausziehen des Rückstandes mit absolutem Alkohol zur Entfernung des salzsauren Glycocoll, Auflösen des Rückstandes in Wasser und Krystallisirenlassen. Man reinigt es durch Auflösen in Weingeist, Fällen mit essigsaurem Bleioxyd, Einleiten von Schwefelwasserstoff in die filtrirte Flüssigkeit, Abdampfen derselben nach Entfernung des Schwefelbleis, Extraction des Rückstandes mit absolutem Alkohol und Umkrystallisiren des ungelöst bleibenden Taurin aus wenig Wasser.

Künstlich erhält man das Taurin durch Einwirkung von Ammoniak auf β-chloräthansulfonsaures Silber; es ist hiernach Amidoisäthionsäure. Man erhält es auch durch Verdampfen einer Lösung von Vinylamin mit überschüssiger schwefliger Säure auf dem Wasserbade. Es krystallisirt in farblosen, oft sehr grossen, lebhaft glänzenden vier- oder meist sechsseitigen Prismen und vierseitigen Pyramiden an beiden Enden der Prismen, löst sich in 15 bis 16 Theilen kaltem, viel leichter in heissem Wasser, ist unlöslich in absolutem Alkohol oder Aether, wenig löslich in kaltem, leichter in heissem Weingeist. Seine Lösungen reagiren neutral. In Alkalilauge ist es löslicher als in reinem Wasser. Beim Erhitzen zersetzt es sich nicht unter 240°, kann mit schwacher Alkalilauge oder Säure, selbst concentrirter Salzsäure, ohne Zersetzung gekocht werden. Durch Einwirkung von Untersalpetersäure wird es zu Isäthionsäure, Stickstoff und Wasser oxydirt, beim Kochen mit starker Kalilauge liefert es Essigsäure und schweflige Säure, keinen Schwefelwasserstoff. Durch Metallsalze wird es aus seinen Lösungen nicht gefällt, ebensowenig durch Molybdänphosphorsäure.

Eine Trennung des Taurin von anderen Körpern, sowie sein Nach-

*) E. **Schulze**, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 122.
Vergl. auch **Drechsel**, Ber. d. sächs. Ges. d. Wiss. 1892 S. 115.

weis sind trotz des Mangels eigentlicher charakteristischer Reactionen wegen der Nichtfällbarkeit dieses Stoffes durch Metallsalze, wegen seiner Schwerzersetzlichkeit und wegen des reichen Gehaltes an Schwefel meist nicht schwierig. Feuchtes Quecksilberoxyd in siedende Lösung von Taurin portionsweise eingetragen, fällt dasselbe als Taurinquecksilberoxyd, wenig löslich in kaltem und heissem Wasser, unlöslich in Alkohol[1]). Durch SH_2 wird Taurin vom Quecksilber getrennt. Den Schwefelgehalt weist man durch Schmelzen mit Soda und salpetersaurem Natron u. s. w. (vergl. § 23) nach.

Serin $C_3H_7NO_3$

wurde von Cramer[2]) neben Leucin und Tyrosin durch 24stündiges Kochen von Seidenleim mit verdünnter Schwefelsäure erhalten. Es bildet farblose monoklinoëdrische Krystalle, die bei 10° in 32 Thln. Wasser, leichter in heissem Wasser löslich, in Alkohol oder Aether unlöslich sind. Wie Glycocoll verbindet sich auch Serin leicht mit Kupferoxyd oder Silberoxyd, giebt mit Säure schwierig krystallisirende, in ihren Lösungen sauer reagirende Salze und wird durch salpetrige Säure in Glycerinsäure $C_3H_6O_4$ verwandelt. Das Serin steht nach dieser letzten Umwandlung zur Glycerinsäure in demselben Verhältnisse, als Glycocoll zur Glycolsäure[3]). Der Seidenleim lieferte neben etwa 5 pCt. Tyrosin 10 pCt. Serin.

Asparaginsäure $C_4H_7NO_4 = CO_2H - CH_2 - CH(NH_2) - CO_2H$.

95. Unter den Producten der Zersetzung von Eiweissstoffen (Casein, Eiereiweiss, Vitellin) und von Horn oder Leim durch Kochen mit mässig verdünnter Schwefelsäure oder mit starker Salzsäure und Zinn ist Asparaginsäure und meist daneben die ihr homologe Glutaminsäure gefunden; die Asparaginsäure wird durch Einwirkung von Pancreassecret auf Blutfibrin auch im Thierkörper gebildet. Künstlich ist die Asparaginsäure leicht zu erhalten durch Kochen von Asparagin mit Alkalilauge oder besser mit Salzsäure[4]). Synthetisch ist sie erhalten durch Einwirkung von alkoholischem Ammoniak auf Fumarsäureäther bei 110°[5]).

Darstellung aus Eiweissstoffen nach Hlasiwetz und Habermann[6]) und E. Schulze.[7]) 100 Gewthle. Eiweiss werden mit 75 Gewthln. Zinnchlorür, 200 Volthln. conc. Salzsäure und 200

---

1) Lang, Maly, Jahresbericht 1876 S. 74.

2) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 96 S. 76.

3) Vergl. Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 15 S. 1735.

4) Schiff, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 17 S. 2929.

5) Körner u. Menozzi, ebendas. Bd. 21 c. S. 86, vergl. auch Piutti, ebendas. Bd. 21 c. S. 351.

6) Ann. Chem. Pharm. Bd. 169 S. 150.

7) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 63 u. Journ. f prakt. Chem. N. F. Bd. 7 S. 397.

Volthln. Wasser 3 bis 4 Tage am Rückflusskühler gekocht, dann mit Wasser verdünnt, mit H_2S von Zinn befreit, zum Syrup eingedampft. Die Salzsäure wird erst durch Bleioxydhydrat, der Rest durch Silberoxyd entfernt. Es wird dann soweit eingedampft, dass beim Erkalten Tyrosin auskrystallisirt. Beim weiteren Eindampfen liefert dann die Mutterlauge Krystalle hauptsächlich von Leucin. Nach dem Filtriren wird die Flüssigkeit mit Bariumcarbonat erhitzt, um die Asparaginsäure und Glutaminsäure in die leicht löslichen Bariumsalze überzuführen, dann weiter eingedampft. Es erfolgen dann weitere Krystallisationen hauptsächlich von Leucin. Wenn dann die Mutterlauge nur wenig Krystallinisches mehr liefert, wird sie zunächst zur Zersetzung der vorhandenen Ammoniaksalze mit etwas Barythydrat längere Zeit erhitzt und dann zur Ausfällung von asparaginsaurem und glutaminsaurem Barium mit Weingeist versetzt, und zwar, um die Ausfällung von noch vorhandenem Leucin zu vermeiden zunächst nur mit soviel Alkohol, dass die Bariumsalze nur zum Theil niedergeschlagen werden. Die vom Ausgeschiedenen abfiltrirte Lösung wird dann soweit eingedampft, dass nach dem Erkalten noch etwas Leucin auskrystallisirt. Dies wird nach mehrtägigem Stehen abfiltrirt und die Mutterlauge wieder mit Weingeist versetzt. Diese Fällung vereinigt man mit der früheren, löst nochmals in Wasser und fällt mit Weingeist. Der syrupförmige Niederschlag wird in Wasser gelöst, aus der Lösung das Barium durch Schwefelsäure genau ausgefällt und das Filtrat eingedampft. Es entsteht ein reichlicher krystallinischer Niederschlag. Um daraus Glutaminsäure zu isoliren, löst man die ganze Masse mit Einschluss der Mutterlauge in der Wärme in conc. Salzsäure. Aus dieser Lösung scheidet sich nach einiger Zeit salzsaure Glutaminsäure ab, die mit Silberoxyd zersetzt wird. Das Filtrat wird durch Eindunsten und Behandeln mit Silberoxyd von der Salzsäure befreit, mit Kupferoxydhydrat gesättigt und mit Bleiessig gefällt. Es wird asparaginsaures Blei gefällt, welches durch H_2S zerlegt wird.

Die Asparaginsäure krystallisirt in rhombischen Prismen, ist in kaltem Wasser ziemlich schwer löslich (1 Thl. in 256 Thl. bei 10^0; 1 Thl. in 18,6 bei 100^0), viel leichter löslich in Salzlösungen (Schiff).

Die synthetisch dargestellte Asparaginsäure ist optisch inactiv, die aus Eiweissstoffen etc. dergestellte activ. Active salzsaure Asparaginsäure wird durch Erhitzen ihrer wässerigen Lösung auf 170—180^0 in inactive übergeführt[1]). In Salpetersäure gelöst zeigt Asparaginsäure $(\alpha)_D = +25{,}16^0$[2]), in wässerigen Lösungen ist sie linksdrehend.

[1]) Michael u. Wing, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 17 S. 2984.

[2]) Landolt, ebendas. Bd. 13 S. 2333.

Asparaginsaures Kupferoxyd kristallisirt mit $4\frac{1}{2}$ Mol. H_2O in blauen glänzenden Nadeln, löslich in kochendem, fast unlöslich in kaltem Wasser. Durch Einwirkung von salpetriger Säure auf in Salpetersäure gelöste Asparaginsäure erhält man Aepfelsäure.

Glutaminsäure $C_5H_9NO_4 = NH_2 - C_3H_5(CO_2H)_2$.

96. Die der Asparaginsäure homologe Glutaminsäure[1]) wurde von Ritthausen und Kreusler neben jener Säure beim Kochen von verschiedenen Eiweissstoffen mit verdünnter Schwefelsäure erhalten. Aus Kleberproteinstoffen, Maisfibrin oder Conglutin gewannen sie die Säure durch einfaches Auskrystallisiren nach Abscheidung von Tyrosin und Leucin aus der mit Kalk gesättigten und eingedampften Flüssigkeit, sie schied sich bei mehrtägigem Stehen in festsitzenden Krusten oder als feines Krystallmehl ab. Von Tyrosin reinigt man sie durch Kochen mit kohlensaurem Baryt, Abfiltriren, Eindampfen und Auskrystallisiren des Tyrosin, das Barium trennt man durch vorsichtigen Zusatz verdünnter Schwefelsäure ab und lässt dann bei genügender Concentration krystallisiren. Bei der Behandlung anderer pflanzlicher Eiweissstoffe im Sieden mit verdünnter Schwefelsäure wurde nur sehr wenig Glutaminsäure erhalten. Sie entsteht auch beim Kochen der Eiweissstoffe mit Zinn und Salzsäure, sowie mit Barythydrat.

Zur Darstellung bedient man sich am Besten des oben bei der Asparaginsäure (voriger §.) angegebenen von E. Schulze modificirten Verfahrens von Hlasiwetz und Habermann. Hat man mit Barythydrat gekocht, so verfährt man nach der Entfernung des Bariums durch Schwefelsäure in derselben Weise.

Die Säure krystallisirt in rhombischen Octaedern oder Tetraedern, klar, farblos, diamantglänzend oder auch in kleinen glänzenden Blättchen[2]); sie löst sich in 100 Thl. Wasser von 16° C., in 302 Thl. Weingeist von 32 pCt. und in 1500 Thl. Weingeist von 80 pCt. Eine aus Conglutin durch Barythydrat dargestellte, wiederholt umkrystallisirte Säure löste sich 1 Thl. in 59,5 Thl. Wasser von 18°[3]).

[1]) Ritthausen u. Kreusler, Journ. f. prakt. Chem. Bd. 107 S. 240
Hlasiwetz u. Habermann, Ann. Chem. Pharm. Bd. 159 S. 304 und Bd. 169 S. 150.
H. Ritthausen, Die Eiweisskörper der Getreidearten, Hülsenfrüchte und Oelsamen u. s. w. Bonn 1872. S. 215—222.
L. Radziejewski u. E. Salkowski, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1874. Bd. 7 S. 1050.

[2]) E. Schulze a. a. O.

[3]) E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 253.

In Alkohol oder Aether ist sie nicht löslich. Die wässerige Lösung schmeckt und reagirt stark sauer. Die Säure schmilzt bei 135—140° nicht ganz ohne Zersetzung, bei stärkerem Erhitzen zersetzt sie sich. In verdünnter Salpetersäure gelöst, giebt sie beim Einleiten von salpetriger Säure die der Aepfelsäure homologe Glutansäure $C_5 H_8 O_5$.

Glutaminsäure aus Lupinenconglutin durch Behandlung mit Säure gewonnen gab in salpetersaurer Lösung $(\alpha)_D = + 34,7^0$[1], in salzsaurer Lösung $(\alpha)_D = + 31,7^0$[2]. Aus demselben Material mit Aetzbaryt bei 150—160° dargestellte Glutaminsäure ist in neutraler, alkalischer und saurer Lösung inactiv[2]. Diese inactive Modifikation lässt sich durch Einwirkung von Penicillium glaucum in die active und zwar linksdrehende überführen; in salzsaurer Lösung $(\alpha)_D = - 31,1^0$[3]. Für Glutaminsäure, dargestellt aus Rübenmelasse, fand Scheibler[4] in wässeriger Lösung $(\alpha)_D = + 10,4^0$, als Kalksalz $(\alpha)_D = - 3,7^0$, als salzsaure Glutaminsäure $(\alpha)_D = + 20,4^0$ und in salpetersaurer Lösung $(\alpha)_D = + 29,9^0$.

Beim Kochen der wässerigen Lösung der Säure mit überschüssigem Kupferoxydhydrat oder kohlensaurem Kupfer erhält man ein Kupfersalz der Glutaminsäure, welches aus der tiefblauen Lösung sehr langsam in schönen lasurblauen Prismen mit pyramidalen Endflächen auskrystallisirt $(C_5 H_7 Cu_4 NO + 2 ^1/_2 OH_2)$. Aus sehr concentrirter Lösung sowie bei der Fällung mit Alkohol wird das Kupfersalz mit anderem Krystallwassergehalt erhalten.

Zum Nachweis dieser Säure kann neben der Rechtsdrehung nur die Darstellung der salzsauren und der noch leichter und schöner krystallisirenden bromwasserstoffsauren Verbindung, des Kupfersalzes und die Elementaranalyse dienen.



Kreatin $C_4 H_9 N_3 O_2 = NH = C(NH_2) - N(CH_3) - CH_2 - CO_2 H$.

97. Das Kreatin findet sich besonders in dem Safte der willkürlichen und glatten Muskeln der Wirbelthiere und vieler Avertebraten, ist aber in geringerer oder grösserer Menge in den verschiedenen Transsudaten, der Amniosflüssigkeit, dem Blute, auch im Gehirne nachgewiesen. Im normalen Harne findet sich wenig oder kein Kreatin. Bezüglich der Darstellung siehe unten die Aufsuchungsmethode von

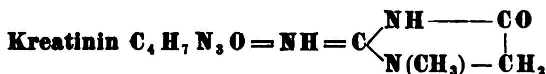
[1] Ritthausen u. Rellstab, Journ. f. pract. Chem. Bd. 107 S. 239.
[2] E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 99 u. 110.
[3] E. Schulze u. Bosshard, ebendas. Bd. 10. S. 143.
[4] Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 17 S. 1725.

Neubauer. Synthetisch wird Kreatin nach Volhard[1]) erhalten durch Einwirkung von Sarkosin auf Cyanamid und einfache Addition beider; es wurde auch durch Erhitzen von Guanidincarbonat und Sarkosin auf 140—160° erhalten[2]).

Das Kreatin stellt beim Auskrystallisiren aus seinen Lösungen durchsichtige farblose, harte, rhombische Prismen dar von der Formel $C_4H_9N_3O_2 + H_2O$; bei 100° getrocknet (selbst auf dem Wasserbade) werden die Krystalle weiss unter Verlust des Krystallwassers. Es besitzt einen bitteren kratzenden Geschmack, löst sich in 74 Theilen kaltem Wasser, viel leichter in heissem Wasser, fast gar nicht in Alkohol, ist unlöslich in Aether. Die Lösungen reagiren neutral. Beim Erhitzen über 100° wird es leicht zersetzt, mit Säure erhitzt oder nur längere Zeit mit Wasser gekocht verliert es Wasser und geht dabei in Kreatinin über. Mit Barytwasser gekocht liefert es Methylhydantoin, Sarkosin, Harnstoff, Ammoniak und Kohlensäure. Mit Quecksilberoxyd gekocht in wässeriger Lösung giebt es unter Abscheidung von metallischem Quecksilber oxalsaures Methylguanidin. Mit seinem Aequivalente einer Säure in wässeriger Lösung versetzt und im Vacuum über Schwefelsäure verdunstet liefert es Salzverbindungen, die sehr unbeständig sind und sauer reagiren. Durch salpetersaures Quecksilberoxyd wird es in Flocken gefällt, ebenso durch Chlorzink aus concentrirter Lösung allmälig in harten warzigen Krystallen, besonders nach Zusatz von Alkohol, durch Phosphorwolframsäure wird es nicht gefällt. Auch mit Chlorcadmium giebt es eine entsprechende aber sehr lösliche Verbindung. Beim Erhitzen von Kreatin mit Natronkalk erhält man Methylamin.

Zur Auffindung des Kreatin in der Muskelflüssigkeit ist besonders die Methode von Neubauer (siehe unten § 325) zu empfehlen. Um es aus Flüssigkeiten zu erhalten, entfernt man durch Kochen die Eiweissstoffe, fällt das Filtrat mit Bleiessig (wobei grosser Ueberschuss des Fällungsmittels zu vermeiden ist), filtrirt, fällt aus dem Filtrate durch Schwefelwasserstoff das überschüssige Blei und dampft bei mässiger Temperatur die Lösung auf ein kleines Volumen ein. Man lässt dann die Lösung eine Woche an einem kühlen Orte stehen, filtrirt die ausgeschiedenen Krystalle ab, wäscht sie mit etwas Weingeist und prüft dann, ob sie beim Trocknen auf dem Wasserbade weiss undurchsichtig werden. Die Fällbarkeit durch salpetersaures Quecksilberoxyd, Reduction von Quecksilberoxyd beim Kochen mit ihrer Lösung giebt dann den weiteren allerdings mangelhaften Nachweis. Am Besten ist noch, es durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure in Kreatinin umzuwandeln und dies nachzuweisen.

[1]) Sitzungsber. d. bayerisch. Acad. 1868. Heft 3 S. 472.
[2]) Horbaczewski, Wien. med. Jahrb. 1885. S. 459.



98. Das Kreatinin ist mit Sicherheit als constanter Bestandtheil des Harns von Menschen und einigen Säugethieren nachgewiesen. Man stellt es aus Kreatin dar, indem man dieses mit sehr verdünnter Schwefelsäure $^1/_4$ Stunde lang kocht, dann durch Bariumcarbonat neutralisirt, filtrirt, die Flüssigkeit zur Trockne auf dem Wasserbade verdunstet, mit Alkohol den Rückstand extrahirt. Der Alkoholauszug liefert beim Verdunsten Kreatinin krystallisirt.

Aus Menschenharn erhält man 1) salzsaures Kreatinin nach Maly[1]) reichlich durch folgendes Verfahren. Mehrere Liter Harn werden auf $^1/_3$ oder $^1/_4$ Vol. abgedampft, von den ausgeschiedenen Salzen abgegossen mit Bleizucker gefällt, das Blei aus der abfiltriten Lösung mit Sodalösung oder SH_2 entfernt, nach der Filtration und Neutralisation durch Essigsäure oder Soda mit concentrirter Quecksilberchloridlösung gefällt. Der Niederschlag in Wasser zertheilt wird mit SH_2 zerlegt, die abfiltrirte Flüssigkeit mit Thierkohle entfärbt und die beim Abdampfen erhaltene Salzmasse aus starkem Alkohol ein oder zwei mal umkrystallisirt. Aus der salzsauren Verbindung kann man dann durch Bleioxydhydrat leicht das Kreatinin abspalten und rein gewinnen.

2) Auch durch Fällung des Harns mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure, Zerlegung des Niederschlags mit Aetzbaryt, Entfernung des überschüssigen Baryt durch CO_2, Abdampfen des Filtrats, Extraction des Rückstandes mit Alkohol und Verdunsten des Filtrats lässt es sich gut erhalten[2]).

3) Kreatinin gewinnt man quantitativ nach der Methode von Neubauer vergl. unten bei Harn § 239.

4) Fällung durch Quecksilberchlorid. Nach G. Stillingfleet Johnson[3]) wird normaler Harn mit $^1/_{20}$ Vol. kaltgesättigter Lösung von Natriumacetat und $^1/_3$ bis $^1/_4$ Vol. kaltgesättigter Lösung von Quecksilberchlorid versetzt, sofort filtrirt, um einen flockigen Niederschlag abzutrennen. Nach 48stündigem Stehen scheidet sich ein zweiter Niederschlag in feinen Kugeln ab, Kreatininquecksilberchlorid. Derselbe wird mit kaltem Wasser gewaschen, mit H_2S zerlegt, mit Thierkohle gereinigt, mit Bleioxydhydrat von Salzsäure getrennt.

Das Kreatinin bildet farblose glänzende wasserfreie Prismen (monoklinoëdrisch) von starkätzendem Geschmacke, sehr schwach alkalisch oder

---

1) Ann. Chem. Pharm. Bd. 159 S. 279.
2) Vergl. Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 68.
3) Proceed. roy. soc. Vol. 43 p. 493. Chem. News Vol. 55 p. 304.

neutral reagirend[1]), nicht flüchtig. Es löst sich in 11,5 Theilen kalten, sehr leicht in heissem Wasser, in 100 Theilen kalten, noch leichter in heissem Alkohol, sehr wenig in Aether. Es verhält sich wie ein kräftiges Alkali, treibt Ammoniak aus seinen Verbindungen aus, bildet mit Säuren sauer reagirende, gut krystallisirende Salze, unter denen besonders folgende von Wichtigkeit sind:

Salzsaures Kreatinin $C_4H_7N_3O, HCl$ durch Abdampfen von Kreatinin mit Salzsäure auf dem Wasserbade erhalten bildet in Wasser leicht lösliche durchsichtige Prismen oder rhombische Tafeln. Die Lösung dieses Salzes wird durch Chlorzink nicht gefällt, wohl aber geschieht die Fällung, wenn dann ausserdem essigsaures Natron im Ueberschusse zugesetzt wird.

Das salzsaure Kreatinin-Platinchlorid $(C_4H_7N_3O, HCl)_2 PtCl_4$ bildet in Wasser leicht, in Alkohol schwerer lösliche orangerothe Prismen und Nadeln. Aus wässeriger Lösung krystallisirt dies Doppelsalz mit 2 Mol. Krystallwasser (Johnson).

Salzsaures Kreatinin-Goldchlorid $C_4H_7N_3O, HCl, AuCl_3$, in kaltem Wasser schwer, in heissem Wasser oder Alkohol leicht löslich, wird durch Fällung einer Kreatininlösung mit Salzsäure und Goldchlorid erhalten. Der gelbliche krystallinische Niederschlag bildet sich allmälig.

Pikrinsaures Kreatinin $C_4H_7N_3O . C_6H_2(NO_2)_3OH$ scheidet sich in Form langer gelber Nadeln aus, die in Wasser ziemlich schwer löslich sind, wenn wässerige Kreatininlösung mit wässeriger Pikrinsäure versetzt wird.[2])

Pikrinsaures Kreatinin + pikrinsaures Kali, $C_4H_7N_3O . C_6H_2(NO_2)_3OH + C_6H_2(NO_2)_3OK$ scheidet sich aus normalem menschlichen Harne auf Zusatz von Pikrinsäure als gelbe Nadeln und Prismen ab, in heissem Wasser leicht, in kaltem schwer löslich.[2])

Kynurensaures Kreatinin. Büschel von farblosen dünnen Prismen, welche sich abscheiden, wenn man gepulverte Kynurensäure in einer heissen verdünnten Lösung von Kreatinin auflöst. Sie sind in Wasser leicht löslich, zersetzen sich beim Umkrystallisiren.[2]).

Das Kreatinin-Chlorzink $(C_4H_7N_3O)_2ZnCl_2$, die wichtigste Verbindnng des Kreatinin, wird erhalten, wenn man zu einer alkoholischen oder nicht allzu verdünnten wässerigen Lösung von Kreatinin säurefreie concentrirte Chlorzinklösung hinzutropft. Es entsteht entweder sofort ein sehr feinkörniger Niederschlag oder bei grösserer Verdünnung bilden sich allmälig schöne Gruppen feiner Nadeln oder Prismen. Aus dem Harnextracte erhält man diese Verbindung nach Zusatz von Chlor-

---

1) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 210.

2) Jaffé, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 391.

zink meist in warzigen Krusten an den Wandungen des Gefässes, dem zahlreiche Büschel und Sterne von Nadeln beigemengt sind. In kaltem Wasser ist die Verbindung sehr wenig, in heissem Wasser leichter löslich, in Alkohol unlöslich, in Mineralsäuren leicht löslich, durch Kochen mit Bleioxydhydrat wird Zinkoxyd, Chlorblei und freies Kreatinin erhalten.

Nach G. S. Johnson[1]) enthalten die frischen Muskeln vom Rind kein Kreatin, sondern ein Kreatinin, welches von dem des Harns verschieden ist. Kreatin entsteht durch Bacterienwirkung im Muskel aus Kreatinin oder einer verwandten Substanz. Das Kreatinin im Harn krystallisirt in efflorescirenden Prismen, die 2 Mol. Krystallwasser enthalten. Das tafelförmige Kreatinin des Harns löst sich bei 17° 1 Thl. in 10,8 Thl. Wasser oder 362 Thl. Alkohol, das Golddoppelsalz ist unlöslich in Aether, das Platindoppelsalz löst sich in 14,1 Thl. Wasser bei 15°. Das Fleischkreatinin, welches auch ohne Erhitzung tafelförmige Krystalle bildet, löst sich 1 Thl. in 10,7 Thl. Wasser oder in 490,2 Thl. Alkohol bei 13,7°. Das Golddoppelsalz ist in Aether löslich, das Platindoppelsalz löst sich in 22,6 Thl. Wasser bei 15°.

Das Kreatinin wird aus nicht zu verdünnter wässeriger Lösung gefällt 1) durch salpetersaures Silberoxyd; der aus feinen Krystallnadeln bestehende Niederschlag löst sich in heissem Wasser und scheidet sich beim Erkalten wieder aus; 2) durch Quecksilberchlorid in ähnlicher Weise; 3) durch salpetersaures Quecksilberoxyd und allmäligen Zusatz von kohlensaurem Natron; 4) durch Phosphorwolframsäure. Durch Kochen mit Quecksilberoxyd oder mit Bleihyperoxyd und Schwefelsäure oder durch übermangansaures Kali wird es ebenso wie Kreatin unter Bildung von Methylguanidin zerlegt.

Bei anhaltendem Kochen von Kreatinin mit Fehling'scher Lösung tritt allmälig Entfärbung ein, das Kupferoxyd wird reducirt, kann aber nur zur Ausscheidung kommen, wenn die Lösung längere Zeit auf 90—100° erhitzt wird. 1 Mol. Kreatinin reducirt 0,75 Mol. Kupferoxyd.[2])

Zersetzt man Kreatininchlorzink mit Schwefelammonium oder lässt man Kreatinin in unreiner alkalischer Lösung einige Zeit stehen, so geht ein Theil des Kreatinin oder das Ganze unter Wasseraufnahme in Kreatin über.

Reactionen. Sehr geringe Quantitäten von Kreatinin werden durch eine von Weyl[3]) angegebene Reaction erkannt. Man versetzt die zu prüfende Lösung, z. B. normalen Menschenharn, mit wenigen Tropfen einer sehr verdünnten wässerigen Lösung von Nitroprussidnatrium und

[1]) Proceed. of the Roy. Soc. 1891. Vol. 50 p. 287.

[2]) Worm-Müller, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 27 S. 59.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 11 S. 2175.

fügt dann tropfenweise verdünnte Natronlauge hinzu. Ist Kreatinin vorhanden, so färbt sich die Flüssigkeit schön rubinroth, aber nur kurze Zeit, die Farbe geht dann in Gelb über. Weder Kreatin noch andere ähnliche Körper geben diese Reaction. In einer wässerigen Lösung giebt 0,287 p. Mille Kreatinin noch diese charakteristische Färbung, im Menschenharne geben sie noch 0,66 p. Mille Kreatinin. Salkowski[1]) fand, dass die bei der Weyl'schen Reaction gelb gewordene Flüssigkeit nach Ansäuern mit Essigsäure und Erhitzen sich erst grünlich, dann blau färbt (Berliner Blau); Colasanti[2]) empfiehlt Ameisensäure statt Essigsäure.

Wenn man nach Maschke[3]) wässerige Lösung von Kreatinin mit Natriumcarbonat sättigt, dann mit Fehling'scher Kupferlösung versetzt, so entsteht bei gewöhnlicher Temperatur allmälig, schneller beim Erhitzen, weissliche Trübung, dann flockiger Niederschlag, während die blaue Färbung der Lösung abnimmt. Der weisse Niederschlag besteht aus Kreatininkupferoxydul, ist leicht löslich in Wasser, verdünnter Salzsäure, auch in Ammoniak, schwer löslich in gesättigter Natriumcarbonatlösung. Eine Lösung, welche 0,01 gr Kreatinin in 100 CC. enthält, giebt noch weisse Trübung. Kreatin giebt diese Reaction nicht.

Reaction von Jaffé[4]) mit Pikrinsäure. Man versetzt die zu prüfende Lösung, z. B. Harn, mit etwas wässeriger Pikrinsäurelösung und einigen Tropfen verdünnter Natronlauge. Bei Anwesenheit von Kreatinin tritt sofort Rothfärbung (rothorange bis dunkelblutroth) ein; dieselbe nimmt in den nächsten Minuten zu und bleibt stundenlang unverändert. Sie fällt noch positiv aus bei Verdünnung von 1 auf 5000 Thl. Nur das Aceton zeigt auf Zusatz der genannten Reagentien in der Kälte eine schwach röthlich-gelbe Färbung, die indess mit der viel intensiveren reinrothen Färbung durch Kreatinin nicht verwechselt werden kann.

Durch die angegebenen Reactionen und Darstellungsweisen ist es leicht, Kreatinin in den verschiedenen Flüssigkeiten, besonders im Harne nachzuweisen und es zu gewinnen.

Methylguanidin $CH_3NH-C=(NH)-NH_2$

von Dessaignes Methyluramin genannt, wurde zuerst durch Kochen von Kreatinlösung mit Quecksilberoxyd oder Bleihyperoxyd und Schwefelsäure, dann aus Kreatinin durch Permanganat erhalten; synthetisch von

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 133 u. Bd. 9 S. 127.
[2]) Gazz. chim. T. 17 p. 133.
[3]) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 17 S. 134.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 399.

Erlenmeyer durch Vereinigung von salzsaurem Methylamin mit Cyanamid in alkoholischer Lösung bei 60—70°.

Sehr hygroskopische Krystalle, stark alkalisch reagirend. Das Platindoppelsalz krystallisirt in monoklinen Prismen, löst sich in 14,3 Thl. Wasser bei 18—19°. Golddoppelsalz rhombische Krystalle, schwer löslich in Wasser und Alkohol, leicht löslich in Aether, sehr zersetzlich.

Pikrinsäureverbindung $C_2H_7N_3, C_6H_2(NO_2)_3OH$, in Wasser schwer lösliche Nadeln, Schmelzpunkt 192°.

Methylguanidin wird durch Phosphorwolframsäure gefällt. Von Brieger[1]) aus faulem Pferdefleisch und aus Kulturen von Kommabacillen auf Rindfleisch dargestellt, von Hoffa[2]) aus mit Septicaemiebacillen geimpften uud gestorbenen Kaninchen.

Lysin $C_6H_{14}N_2O_2$

99. Dargestellt von Drechsel[3]) aus Caseïn, von E. Fischer und Drechsel aus Leim und von Siegfried und Drechsel aus Conglutin, Glutenfibrin, Hemiproteïn, Oxyprotsulfonsäure, auch aus Eieralbumin neben Lysatinin (vergl. unten) und anderen Basen entweder nach dem Verfahren von Hlasiwetz und Habermann mit starker Salzsäure oder nach Schützenberger durch Erhitzen mit Barythydrat oder durch Pankreasverdauung, aus Fibrin von Hedin. Die Basen werden durch Phosphorwolframsäure gefällt, der Niederschlag mit Aetzbaryt zerlegt, aus der Lösung der Baryt mit Schwefelsäure gefällt, das Filtrat mit Salzsäure neutralisirt und zum Syrup eingedampft. Der Syrup erstarrt beim Stehen über Schwefelsäure krystallinisch. Die erhaltenen Krystalle, in absolutem Alkohol fast unlöslich, sind salzsaures Lysin. Durch Fällung der concentrirten wässerigen Lösung derselben mit Platinchlorid wird das Platindoppelsalz $C_6H_{14}N_2O_2 . H_2PtCl_6 + C_2H_6O$ erhalten. Das Lysin kann zwei Chlorhydrate bilden, das eine mit mit 1 HCl, das kaum sauer reagirt und das andere mit 2 HCl, das stark sauer reagirt. Die freie Base aus der salzsauren Verbindung durch Bleioxydhydrat dargestellt, krystallisirt nicht und zersetzt sich leicht. Das Lysin ist dem Ornithin Jaffé's $C_5H_{12}N_2O_2$ (vergl. unten § 125 Ornithursäure) homolog und höchst wahrscheinlich Diamidocapronsäure.

Mit Benzoylchlorid und Natronlauge geschüttelt gibt das Lysin ein Product, welches die grösste Aehnlichkeit mit Ornithursäure hat.

---

[1]) Brieger, Ptomaine III. 1886 S. 34 u. Berl. Klin. Wochenschr. 1887 No. 44.

[2]) Sitzungsber. d. phys. med. Ges. zu Würzburg 1889 S. 96.

[3]) Drechsel, der Abbau der Eiweissstoffe: Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abthl. 1891. S. 248 u. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 23 S. 3096 u. Bd. 25 S. 2454, ferner Ber. d. sächs. Gesellsch. d. Wissensch. 1892 S. 115.

Diamidoessigsäure $C_2 H_6 N_2 O_2$.

Diese Säure fand Drechsel unter den Zersetzungsproducten des Eiweiss mit Salzsäure neben dem Lysin (Diamidocapronsäure). Sie bildet eine in Alkohol fast unlösliche, in kaltem Wasser wenig, in kochendem Wasser leicht lösliche, in farblosen Prismen krystallisirende Monobenzoylverbindung (Schmelzpunkt 227°) und kann als solche isolirt werden. Beim Erhitzen mit Salzsäure und Alkohol im Rohr auf 140° zerfällt diese Verbindung in Benzoësäureäthylester und salzsaure Diamidoessigsäure. Die freie Säure krystallisirt in flachen Prismen.

Lysatinin $C_6 H_{11} N_3 O$

wird aus der Mutterlauge des Lysin durch Fällen mit Silbernitrat als Silberdoppelsalz, $C_6 H_{11} N_3 O, HNO_3 + AgNO_3 + H_2 O$ in schönen silberglänzenden weissen langen Nadeln erhalten. Die freie Base zersetzt sich leicht. Diese Base liefert beim Kochen mit Aetzbarytlösung Harnstoff.

Taurocarbaminsäure*) $C_3 H_8 N_2 SO_4$

findet sich im menschlichen Harne nach Einnahme von Taurin, wahrscheinlich in geringer Menge auch im normalen Harne ohne Taurineinnahme, und ihr Kalisalz wird künstlich einfach erhalten durch Erwärmen von Taurin in concentrirter wässeriger Lösung mit der hinreichenden Menge cyansaurem Kali und Fällung durch Alkohol. Aus dem Harne wird sie dargestellt durch Ausfällen des Harns mit Bleiessig, Abfiltriren nach 24 stündigem Stehen, Entfernung des Bleis durch SH_2 aus der Lösung und starkes Eindampfen (mehrmalige Wiederholung dieser Reinigung wenn nöthig), Ausfällung mit absolutem Alkohol, Lösen in Wasser, Entfärbung durch Thierkohle, Wiederabdampfen und Ausfällung mit absolutem Alkohol. Aus dem hierbei resultirenden rohen Alkali- oder Kalksalz wird die Säure durch Behandlung mit Alkohol und Schwefelsäure frei gemacht und durch Abdampfen bei niederer Temperatur als Syrup erhalten, aus dem sich die Säure in krümlicher Masse abscheidet (hinsichtlich der Reinigung der Säure vergl. die Arbeiten von Salkowski).

Die reine Säure krystallisirt wasserfrei in glänzenden, quadratischen Blättchen, sie ist leicht löslich in Wasser, schwer in Alkohol, unlöslich in Aether. Das Barytsalz krystallisirt aus heissem Alkohol in kleinen stark glänzenden, zu Drusen vereinigten rhombischen Tafeln. Mit Barytwasser auf 140° erhitzt zersetzt sich die Säure in Taurin, CO_2 und NH_3.

Cystin $C_6 H_{12} N_2 S_2 O_4 = (SC(CH_3)(NH_2)COOH)_2$.

100. Das Cystin findet sich in seltenen Fällen alz einziger oder hauptsächlicher Bestandtheil von Blasen- oder Nierensteinen bei Menschen und Hunden und tritt in einzelnen Fällen als Harnbestandtheil meist

*) E. Salkowski, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 6 S. 744 u. 1191.

als krystallinischer Niederschlag von grauweisser Farbe beim Stehen des Harns zunächst an Menge zunehmend auf. In geringer Menge ist Cystin (oder ein cystinähnlicher Körper) im normalen Harn von Menschen und von Hunden gefunden, reichlicher bei Phosphorvergiftung.[1]) R. Külz[2]) beobachtete die Bildung von Cystin bei Einwirkung von Pankreas auf Fibrin. In der Rindsniere und in der Leber eines Säufers sind Spuren von Cystin gefunden.

Aus Cystinsteinen oder Sedimenten stellt man das Cystin durch Lösung in Ammoniak und Verdunstenlassen des Ammoniak bei gewöhnlicher Temperatur in schönen Krystallen, sechsseitigen Tafeln oder Rhomboëdern dar, die stets farblos sind und sich hierdurch, sowie durch ihre Leichtlöslichkeit in Aetzammoniak von der Harnsäure, die zuweilen ähnlich krystallisirt, unterscheiden. In Wasser ist das Cystin eben so unlöslich als in Alkohol oder Aether; in Aetzalkalilaugen löst es sich leicht auf. In Lösungen von kohlensaurem Natron oder kohlensaurem Kali löst es sich leicht, aber nicht in kohlensaurem Ammoniak. In Mineralsäuren ist es löslich, auch in Oxalsäurelösung, durch Weinsäure oder Essigsäure wird es nicht gelöst. Mit den Mineralsäuren bildet es krystallisirbare, aber leichtzersetzliche Salze. Beim Erhitzen zerlegt es sich unter Entwickelung eines übelriechenden Oels. Cystin zeigt starke linksseitige Circumpolarisation.[3]) Külz fand $(\alpha)_j = -142^0$, Mauthner in salzsaurer Lösung (0,8 bis 2 Grm. in 100 CC) $(\alpha)_D = -205{,}86^0$.

Beim Schütteln von Cystin in Natronlauge gelöst mit Benzoylchlorid erhält man voluminösen Niederschlag, bestehend aus seideglänzenden Nadeln des Natronsalzes des Dibenzoylcystins $C_6 H_8 N_2 S_2 O_4 (C_7 H_5 O)_2 Na_2$. Aus der verdünnten Lösung dieser Verbindung wird durch stärkere Säuren die freie Säure als Gallerte abgeschieden, welche aus Alkohol in feinen Nadeln krystallisirt, die zu blumenkohlartigen Massen vereinigt sind. Schmelzpunkt 180—181^0.[4])

Beim Kochen des Cystins mit Kalilauge oder Aetzbaryt bildet sich Schwefelmetall (doch geht die Abspaltung von $H_2 S$ nur langsam vor sich und bleibt unvollkommen)[4]) und ausserdem NH_3 und Brenztraubensäure (resp. CO_2, Oxalsäure und Uvitinsäure.[5])

---

[1]) Goldmann u. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 254. Brenzinger, ebendas. Bd. 16 S. 552.

[2]) Zeitschr. f. Biolog. Bd. 27 S. 415.

[3]) Mauthner, Sitzungsber. d. Wien. Acad. d. Wiss. Bd. 85. II. 20. April 1882. Külz, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 15 S. 1401.

[4]) Goldmann u. Baumann a. a. O. Brenzinger a. a. O.

[5]) Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 15 S. 1731.

Beim Behandeln von Cystin mit Zinn und Salzsäure entsteht Cysteïn $CH_3 - C(SH)(NH_2) - COOH$, das nach Entfernung des Zinn durch H_2S, schnelles Verdunsten zur Trockne, Lösen in Alkohol und vorsichtiges Neutralisiren mit Ammoniak als feinkörniger, in Wasser ziemlich leicht, in Ammoniak, Mineralsäuren auch in Essigsäure löslicher Niederschlag erhalten wird.*) Das Cysteïn giebt in wässeriger Lösung an der Luft stehend durch Einwirkung des Sauerstoffs bald krystallinisches Cystin. Diese Umwandlung erfolgt schnell in alkalischer Lösung auf Zusatz gelinder Oxydationsmittel. Bei Verwendung von Eisenchlorid für diesen Zweck tritt vorübergehend indigoblaue Färbung ein mit nachfolgender Ausscheidung von krystallinischem Cystin. Das Cysteïn zeigt schwache Linksdrehung. Ein Phenylcysteïn $CH_3 - C(SC_6H_5)(NH_2) - COOH$ stellten Baumann und Preusse*) aus der Bromphenylmercaptursäure dar.

Zum Nachweise des Cystin in Steinen und Sedimenten löst man in Aetzammoniak und lässt verdunsten. Man benutzt dann die Krystallformen, die Löslichkeit in Salzsäure, Fällbarkeit durch kohlensaures Ammoniak, ganz besonders aber eine der folgenden beiden Proben zur Erkennung dieses Körpers.

1) Eine Probe Cystin mit ein paar Tropfen Natronlauge auf Silberblech zum Kochen erhitzt giebt einen nicht wegzuwaschenden braunen oder schwarzen Fleck von Schwefelsilber.

2) Eine andere Probe im Probirglase mit einer Lösung von Bleioxyd in Kalilauge gekocht giebt Schwärzung durch gebildetes Schwefelbei.

Da diese Bildung von Schwefelmetall auch beim Kochen von Albumin-, Schleim- und Leimstoffen eintritt, so ist darauf zu sehen, dass diese Stoffe nicht in den Proben zugegen sind, die man auf die beschriebene Weise auf Cystin untersuchen will.

Zum Nachweis des Cystins im Harne schüttelt man 1000 cbcm desselben mit 10 cc Benzoylchlorid und 120 cbcm 10procentiger Natronlauge bis zum Verschwinden des Benzoylchloridgeruches, filtrirt vom Niederschlag (Benzoylverbindungen der Kohlehydrate und Phosphate) ab, säuert das Filtrat mit 10 cbcm 25procent. Schwefelsäure an und schüttelt 3mal mit dem gleichen Vol. Aether aus. Den beim Verdunsten des Aethers hinterbleibenden Rückstand, welcher das Benzoylcystin enthält, prüft man durch mehrstündiges Erwärmen auf dem Wasserbade mit Natronlauge und einigen Tropfen Bleiacetat auf Bildung von Schwefelblei. Den

*) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 8 S. 299. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 18 S. 258.

Aetherextractrückstand kann man auch zur quantitativen Bestimmung des Cystins benutzen.[1]) (Siehe § 241.)

Melolonthin $C_5H_{12}N_2SO_3$ ist von Schreiner[2]) ein Körper genannt, der durch Extraction von Maikäfern mit Wasser, Abscheidung der Eiweissstoffe durch Kochen, Eindampfen, Fällen mit Bleiessig, Entfernung des Bleis aus dem Filtrate durch SH_2, weiteres Eindampfen, Abscheidung der Harnsäure und nachheriges Einengen zum Syrup neben viel Leucin erhalten wurde. Aus Wasser unter Zusatz einiger Tropfen Ammoniak umkrystallisirt, bildet das Melolonthin farblose, seideglänzende, harte, zwischen den Zähnen knirschende Krystalle, die sich schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser, wenig in Weingeist, gar nicht in Alkohol, leicht in Aetzalkalien und kohlensauren Alkalilösungen, ebenso in Schwefelsäure, Salzsäure, Salpetersäure, Weinsäure, weniger in Essigsäure lösen. Seine wässrigen Lösungen reagiren neutral. Beim Kochen der Lösung des Melolonthin in Aetzalkalilauge mit Bleioxyd scheidet sich Schwefelblei aus. Der aus Hornspähnen beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäue entstehende schwefelhaltige Körper scheint mit dem Melolonthin nicht identisch zu sein.

Glucosamin $C_6H_{13}NO_5$.

101. Das salzsaure Glucosamin wurde von Ledderhose[3]) aus Chitin durch Einwirkung rauchender Salzsäure in der Wärme erhalten. Hummerschalen werden durch verdünnte Salzsäure und gutes Auswaschen mit Wasser von Calciumcarbonat u. s. w. befreit, in kleine Stücke zerschnitten und auf siedendem Wasserbade mit concentrirter Salzsäure bis zum Absatz krystallinischer Krusten an der Oberfläche abgedampft. Man lässt unter gutem Umrühren erkalten, filtrirt durch Leinwand, saugt mit der Wasserpumpe ab, wäscht mit wenig Wasser und Alkohol, löst in Wasser, dampft ein, filtrirt die concentrirte Lösung und lässt zur Krystallisation erkalten. Nach den Untersuchungen von Schmiedeberg[4]) ist in dem Chondrosin, einem Zersetzungsproduct der Chondroïtinschwefelsäure (siehe § 194) Glucosamin enthalten.

Das salzsaure Glucosamin bildet farblose, harte, luftbeständige, wasserfreie Krystalle, auch beim Erhitzen unveränderlich, monosymmetrisch hemimorph, sehr leicht in Wasser, sehr schwer in Alkohol, nicht in Aether löslich.

Durch entsprechende Behandlung des Chitins mit concentrirter Bromwasserstoffsäure erhält man das in glänzenden grossen Krystallen sich abscheidende, mit der salzsauren Verbindung isomorphe brom-

---

[1]) v. Udránszky u. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15 S. 88.
[2]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 161 S. 252.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2 S. 213 u. Bd. 4 S. 139.
[4]) Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 28 S. 355.

wasserstoffsaure Glucosamin[1]). Mit salpetersaurem oder schwefelsaurem Silber erhält man aus dem salzsauren das salpetersaure oder schwefelsaure Glucosamin in guten Krystallen. Zerlegt man schwefelsaures Glucosamin mit Aetzbaryt und löst in Alkohol, so krystallisirt die freie Base in grossen Nadeln[2]).

Eine wässerige Lösung von salzsaurem Glucosamin giebt mit salzsaurem Phenylhydrazin und essigsaurem Natron erwärmt Phenylglucosazon[1]). Mit Benzoylchlorid und Natronlauge geschüttelt giebt Glucosamin ein krystallinisches Estergemenge, aus dem das aus Alkohol in langen Nadeln krystallisirende, in kaltem Alkohol schwer lösliche, in Wasser unlösliche, in heissem Alkohol, Eisessig, Chloroform lösliche Tetrabenzoylglucosamin (Schmelzpunkt 198° unter Bräunung, wenn aus Alkohol umkrystallisirt) isolirt werden kann[3]). Durch partielle Verseifung mit rauchender Salpetersäure wurde aus dem Tetra- ein Dibenzoat (Schmelzpunkt 166° unter Zersetzung) gewonnen.

Die spec. Drehung beträgt für das salzsaure Salz nach Ledderhose in 16,5procentiger Lösung $(\alpha)_D = +70{,}15^0$, nach Landolt für 5procentige Lösung $+ 74{,}64^0$. Die spec. Drehung ist unabhängig von der Temperatur und mit der Concentration zunehmend. Für das bromwasserstoffsaure Salz wurde gefunden $(\alpha)_D = +55{,}21 + 0{,}053053 . q$ wobei q die Procentmenge Wasser bedeutet.

Mit Alkali versetzt färbt sich die Lösung des salzsauren Glucosamin grün dann braunroth, endlich braun bis schwarz; es bildet sich Milchsäure und ein wenig Brenzkatechin. Beim Erhitzen mit Aetzbarytlösung entsteht eine Säure, welche wahrscheinlich mit der Chondronsäure identisch ist (Schmiedeberg).

Die alkalische Lösung des Glucosamin reducirt Kupferoxyd zu Oxydul wie Glucose; die Menge des reducirten Kupferoxyds ist relativ zu beiderseitigem Molaculargewichte die gleiche. Wismuthoxyd, Indigolösung, Silberoxyd werden in alkalischer Lösung ebenso reducirt wie durch Glucose.

Bei der Behandlung von salzsaurem Glucosamin mit Salpetersäure in der Wärme entsteht eine Säure von der Zusammensetzung $C_6 H_{10} O_8$, welche bei 185° schmilzt, in Wasser und Alkohol leicht löslich, rechtsdrehend ist, leicht lösliches Kalisalz bildet und bei der trockenen Destillation in Wasser und Brenzschleimsäure zerfällt, die Isozucker-

---

[1]) Tiemann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 19 S. 49 u. 156.

[2]) Vergl. Tiemann, ebendas. Bd. 17 S. 244.

[3]) Baumann, ebendas. Bd. 19 S. 3220 u. Kueny, Zeitschr. f. physiol. Chem Bd. 14 S. 330.

säure[1]). Durch salpetrige Säure kann die NH_2gruppe im Glucosamin durch eine Hydroxylgruppe ersetzt werden. Der so gebildete Zucker krystallisirt nicht und erwies sich als nicht gährungsfähig.



Chitin $C_{60}H_{100}N_8O_{38} + n(H_2O)$. ?

102. Chitin ist ein, wie es scheint, sämmtlichen Gliederthieren, auch einigen Mollusken eigener Gewebsbestandtheil von grosser Resistenz und deshalb ziemlich leicht von anderen Stoffen trennbar. Man stellt es am zweckmässigsten aus den Panzern von grossen Krebsen oder Käfern (Maikäfern) dar, indem man zunächst bei Krebsen durch Salzsäure und Waschen mit Wasser die anorganischen Salze entfernt, dann mit verdünnter Kalilauge kocht, dann mit Wasser, Alkohol, Aether auskocht und wäscht. Um die letzten Spuren von Farbstoffen aus dem zurückbleibenden Chitin zu entfernen dient am Besten Behandeln mit einer Lösung von übermangansaurem Kali; man erhält hierdurch das Chitin vollkommen weiss. Es behält bei dieser Behandlung die Form, welche ihm in den Thieren eigen war, unverändert und kann ohne Zersetzung lange Zeit bei 132 – 135° getrocknet werden, doch geht zwischen 100 und 130° allmälig Wasser fort, so dass sich nicht genau entscheiden lässt, ob und inwieweit dasselbe zur Constitution des Chitin selbst gehört. Bei 110° getrocknet kommt ihm die Zusammensetzung $C_{15}H_{26}N_2O_{10}$ zu[2]), während bei 135° noch fast ein Molecül Wasser für diese Formel entweicht[3]). Hoch erhitzt schmilzt das Chitin nicht, sondern verkohlt. Es ist kein Lösungsmittel bekannt, durch welches Chitin unverändert gelöst würde. Der Behandlung mit starken Alkalilaugen wiedersteht es lange, in concentrirter Schwefelsäure, sowie in heisser starker Salzsäure wird es zunächst unter Bildung von Stoffen gelöst, die bei Neutralisation gefällt werden, bei länger dauernder Behandlung zu Glucosamin umgewandelt. Daneben bilden sich fette flüchtige Säuren: Ameisensäure, Essigsäure, Buttersäure, die wahrscheinlich Zersetzungsproducte von abgespaltenem Kohlehydrat oder von Glucosamin selbst sind und durch Einwirkung der starken Säure gebildet werden. Nach dieser von Sundvik aufgestellten Ansicht verhält sich das Chitin zum Glucosamin ähnlich der Cellulose oder dem Glycogen zum Traubenzucker, während man früher das Chitin für ein Glucosid hielt. Da man nach Sundvik aus dem Chitin unter günstigen Verhältnissen 92 pCt. Glucosamin erhält, ist an der Richtigkeit seiner Ansicht kaum zu zweifeln.

---

1) Tiemann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 17 S. 241.
2) Ledderhose, a. a. O.
3) Sundvik, Zeitsch. f. physiol Chem. Bd. 5 S. 384.

Hyalin.

103. Von den Mutterblasen der Echinococcen sind die jüngeren trübe durchscheinenden Blasen mit etwa 16 pCt. schwefelsauren, phosphorsauren und kohlensauren Salzen imprägnirt, die älteren durchsichtigeren ziemlich aschefrei; die ersteren enthalten auch etwas Eiweissstoff. Von den jüngeren Blasen ist von Lücke[1]) die Zusammensetzung C 44,1, H 6,7, N 4,5, O 44,7 pCt. und in den älteren C 45,3, H 6,5, N 5,2, O 43,0 im Mittel gefunden. Obwohl die jüngeren Blasen wahrscheinlich wegen ihres Eiweissgehaltes etwas andere Reactionen geben als die älteren, ist doch der Hauptbestandtheil derselben, der als Hyalin bezeichnet ist, identisch. Es ist dies eine opalisirend durchsichtige Substanz, welche in Wasser, Alkohol, Aether unlöslich ist, elastische leicht zerreissende Häute bildet, die sich im zugeschmolzenen Glasrohr in Wasser bei 150° lösen, wenn sie von den älteren Blasen herstammen. Diese Lösung wird durch Alkohol, neutrales oder basisches Bleiacetat und durch salpetersaures Quecksilberoxyd gefällt, während Chlorwasser, Gerbsäure, Ferrocyankalium und Essigsäure, Silbernitrat, Quecksilberchlorid keinen Niederschlag geben. In Kali- oder Natronlauge lösen sich die Häute nur ganz allmälig und unvollständig, in Essigsäure gar nicht, in verdünnten Mineralsäuren unvollständig, in concentrirter Salzsäure oder Salpetersäure beim Kochen. Sowohl beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure als auch beim Stehen in concentrirter Schwefelsäure und nachherigen Eintragen in kochendes Wasser geben die Häute Traubenzucker neben nicht weiter untersuchten stickstoffhaltigen Körpern. Man erhält aus den trockenen Häuten bis 50 pCt. rechtsdrehenden, mit Hefe gährenden Traubenzucker.

Onuphin $C_{24}H_{43}NO_{10}$.

104. In den Wohnröhren von Onuphis tubicola hat Schmiedeberg[2]) 38,5 pCt. einer Substanz gefunden, welche neben $CaHPO_4$ und $MgHPO_4$ und nur 3,8 pCt. eines albuminartigen Stoffes diese Röhren bildet, die obige Zusammensetzung besitzt und als eine Verbindung eines Kohlehydrats mit einer stickstoffhaltigen Säure, wahrscheinlich einer Amidosäure angesehen werden kann. Werden diese Röhren mit verdünnter Salzsäure behandelt, so geht der grösste Theil der Phosphate in Lösung, wäscht man dann mit verdünnter Salzsäure aus (beim Waschen mit Wasser quillt die Substanz hoch auf), löst den Rückstand in verdünnter Kalilauge, filtrirt und fällt mit 2—3 Vol. Alkohol, so

---

1) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 19 S. 189.

2) Mittheilungen a. d. zool. Station zu Neapel. 1882. Heft 3. S. 373.

scheidet sich das Onuphin als weisse, flockige Masse ab, die nach Auswaschen mit Alkohol alsbald mit Wasser behandelt eine völlig klare, fadenziehende, bei grösserer Concentration fast gallertartige Flüssigkeit liefert. Das trockene Onuphin bildet eine trockene an Thonerde erinnernde Masse. Es liefert keine Albuminreactionen, löst sich in concentrirter Schwefelsäure oder Salzsäure und giebt nach Zusatz von Wasser und längerem Kochen in alkalischer Lösung Reduction von Kupferoxyd wie Zucker. Blosses Kochen mit verdünnter Säure liefert keine reducirende Flüssigkeit. Die Substanz enthält 10—15 pCt. Asche und zwar saures Kaliumphosphat. Durch Gerbsäure oder Quecksilberchlorid wird Onuphin nicht gefällt, dagegen geben mehrere Metalloxyde und die Salze der alkalischen Erden in neutraler oder essigsaurer Lösung Niederschläge. Wenn die mit Salzsäure behandelten und gut ausgewaschenen Röhren im zugeschmolzenen Glasrohr mit Wasser 24 Stunden bei 120—130° erhitzt werden, bildet sich ein stickstofffreier, dextrinartiger Körper, der durch Alkohol fällbar ist und durch Kochen mit verdünnter Säure in Zucker übergeht, nämlich Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirt; neben dem dextrinartigen Körper scheint auch etwas Traubenzucker zu entstehen und ein Körper, der nach den Reactionen vielleicht Amidosäure ist.

Protagon.

105. Unter dem Namen Protagon wurde zuerst von Liebreich[1]) aus dem Gehirn ein leicht zersetzlicher, complicirt zusammengesetzter krystallisirter Körper isolirt, für welchen er die Zusammensetzung C 66,74; H 11,74; N 2,80; P 1,23 pCt., im Uebrigen Sauerstoff ermittelte. Die späteren Analysen von Gamgee und Blankenhorn[2]) ergaben für denselben Körper C 66,39; H 10,69; N 2,39; P 1,06 pCt.. Mit diesen Werthen stimmen die Ergebnisse der Untersuchungen von Baumstark[3]) sehr nahe überein, nach welchen das Protagon C 66,53; H 11,04; N 2,35; P 1,066 pCt. enthält. Kossel[4]) erhielt Körper derselben Zusammensetzung; andere Präparate aber, welche nach einer etwas abweichenden Methode dargestellt waren, zeigten abweichende Werthe. Kossel fand auch im Protagon einen Schwefelgehalt von 0,5—0,8 pCt. Das Protagon findet sich nur in den markhaltigen Nervenfasern.

Zur Darstellung desselben wird die von Blut und Häuten möglichst

---

1) Ann. Chem. Pharm. Bd. 134 Bd. 29.
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3 S. 260.
3) Ebendas. Bd. 9 S. 145.
4) Arch. f. Anat. u. Physiol. physiol. Abthlg. 1891.
Verhandl. d. physiol. Gesellsch. zu Berlin 1891 No. 15 u. 16.

vollständig gereinigte und zerkleinerte Gehirnmasse mit kaltem Weingeist einige Tage stehen gelassen; dann der Weingeist abgegossen, die Masse möglichst fein zerrieben oder besser durch ein feines Sieb mit einem breiten, kurzborstigen Pinsel hindurchgetrieben, mehrere Stunden lang mit 85 procentigem Alkohol bei 45° digerirt und warm filtrirt. Die ungelöste Gehirnsubstanz wird mit neuen Mengen Alkohol in derselben Weise so oft behandelt, als sich beim Abkühlen des Filtrats auf 0° noch ein gelblichweisser, flockiger Niederschlag abscheidet. Die vereinigten Niederschläge werden in einer Flasche mit Aether geschüttelt, um Cholesterin und Lecithin zu entfernen. Die abfiltrirte und über Schwefelsäure getrocknete Substanz wird mit etwas Wasser angerührt, in Alkohol vertheilt und langsam auf 45° erhitzt. Das beim Abkühlen der filtrirten Lösung sich abscheidende Protagon wird mit Aether nochmals gewaschen und wiederholt in dieser Weise umkrystallisirt. Es bildet bei der langsamen Abscheidung aus alkoholischer Lösung mikroskopische Nadeln, welche sich rosettenförmig zusammenlagern und bei der Ausscheidung aus ganz concentrirter Lösung gekrümmte Form zeigen. Die Krystallgruppen haben oft das Ansehen von scharf contourirten, radial gestreiften Knollen mit höckerigen oder gezackten Rändern. Zerrieben und über Schwefelsäure getrocknet bildet es ein weisses, nicht hygroskopisches Pulver. Es löst sich schwer in kaltem Alkohol, leicht in warmem Alkohol und warmem Aether. Mit Wasser quillt es gelatinös und bildet schliesslich eine opalescirende Lösung. Bei 180° beginnt es sich zu bräunen und bei 200° zu schmelzen. In alkoholischer Lösung über 48° erhitzt, ebenso mit Aether anhaltend gekocht, zersetzt es sich. Beim Kochen mit Barytwasser zerfällt es; es entstehen dabei die Zersetzungsprodukte des Lecithins und Cerebrine. Auch die Salze schwerer Metalle, z. B. Bleiacetat, sind im Stande, Cerebrin abzuspalten.

Cerebrine.

106. Die Cerebrine bilden sich bei der Verseifung des Protagons durch Aetzalkalien oder Aetzbaryt. Man kann diese Behandlung ohne vorherige Darstellung des Protagons direct mit der frischen Gehirnmasse vornehmen, indem man dieselbe mit Barytwasser aufkocht und aus dem entstandenen Niederschlag die Cerebrine mit heissem Alkohol extrahirt (Parkus). Kossel*) löst zur Darstellung der Cerebrine das Protagon in Methylalkohol, versetzt mit einer heissen Lösung von Aetzbaryt in Methylalkohol unter Umschütteln und erwärmt einige

*) a. a. O.

Minuten auf dem Wasserbade. Der entstandene Niederschlag wird dann abfiltrirt, in Wasser zertheilt und durch CO_2 zerlegt. Man filtrirt ab, erwärmt den Rückstand mit Alkohol und filtrirt wieder, beim Erkalten scheiden sich die Cerebrine ab. Parkus[1]) trennte die nach seiner Methode erhaltenen Cerebrine in 3 verschiedene Körper, die er als Cerebrin, Homocerebrin und Enkephalin bezeichnet, durch Umkrystallisiren aus Alkohol, in dem Cerebrin weniger löslich ist als die beiden anderen genannten Stoffe. Die Scheidung von Homocerebrin und Enkephalin bewirkte er durch Aceton. Kossel isolirte aus dem von ihm dargestellten Stoffe zwei Körper, die mit dem Cerebrin und Homocerebrin von Parkus identisch sind. Auch die von Thudichum[2]) mit Hülfe eines eigenthümlichen Verfahrens gewonnenen Stoffe, Phrenosin und Kerasin genannt, entsprechen in ihren Eigenschaften dem Cerebrin und Homocerebrin.

Cerebrin (Phrenosin) C 69,08; H 11,47; N 2,13 pCt. nach Parkus, ist in heissem Alkohol, Aceton, Chloroform löslich, in kaltem und heissem Aether unlöslich, scheidet sich aus alkoholischen Lösungen als krystallinisches Pulver ab, welches aus farblosen Globuliten besteht. Die knolligen Aggregate sind durchsichtig und haben glatte Ränder, getrocknet bilden sie ein leichtes lockeres Pulver, welches in heissem Wasser wenig aufquillt. Erhitzt riecht es nach verbranntem Fett und brennt mit leuchtender Flamme. Beim Zerreiben mit concentrirter Schwefelsäure tritt allmälig eine Rothfärbung ein.

Homocerebrin (Kerasin) C 70,06; H 11,59; N 2,23 pCt. steht an Menge dem Cerebrin nach, löst sich in denselben Flüssigkeiten wie dieses, ausserdem in warmem Aether und ist in Alkohol löslicher. Aus langsam verdunstenden Lösungen scheidet es sich in feinen nadelförmigen Gebilden ab, welche oft eine zusammenhängende Gallerte darstellen. Getrocknet bildet es eine wachsartige, schwer zerreibliche Masse. In heissem Wasser quillt es auf ohne Kleister zu bilden. Gegen concentrirte Schwefelsäure verhält es sich wie Cerebrin. Von Kossel wurde eine Benzoyl- und eine Bromverbindung dargestellt, letztere ist linksdrehend $(\alpha)_D = -12,48^0$.

Enkephalin C 68,40; H 11,60; N 3,09 pCt., nur in geringer Menge vorhanden und wahrscheinlich erst während der Darstellung aus Cerebrin und Homocerebrin entstanden. Es scheidet sich in leicht gekrümmten schönen Blättchen aus und kann dabei auch Gallerte bilden. In heissem Wasser quillt es zu einem vollständigen Kleister.

---

[1]) Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 24 S. 310.

[2]) Grundzüge der anatom. u. klin. Chemie. Berlin 1886.

Diese 3 Cerebrine spalten bei mehrstündigem Erhitzen auf 120° mit verdünnter Schwefelsäure Galactose[1]) ab, welche durch Einengen der filtrirten und von Schwefelsäure befreiten Flüssigkeit leicht krystallinisch erhalten werden kann. Beim Lösen in concentrirter Schwefelsäure und Eintragen der Lösung in kochendes Wasser zersetzen sich die Cerebrine in Ammoniak, eine reducirende Substanz (wahrscheinlich Galactose) und einen mit Wasser kleisterartig quellenden stickstofffreien, in Aether leicht löslichen, bei 62—63° schmelzenden Körper, von Geoghegan[2]) Cetylid genannt. Derselbe gab beim Schmelzen mit Aetzkali im Oelbade bis 300° Palmitinsäure. Es wurden gegen 85 pCt. Cetylid aus Cerebrin erhalten.

Zu den Cerebrinen können auch die von Hoppe-Seyler[3]) aus Milz und aus Eiterkörperchen, neuerdings von Kossel[4]) aus Eiterkörperchen isolirten und von Kossel Pyosin und Pyogenin genannten Stoffe gezählt werden. Pyosin enthält C 64,34; H 10,43; N 2,64 pCt. und Pyogenin C 62,62; H 10,45; N 2,47 pCt. Sie krystallisiren in Knollen, zeigen die Löslichkeitsverhältnisse der Cerebrine und spalten beim Erhitzen mit Schwefelsäure ein Kupferoxyd reducirendes Kohlehydrat ab. Auch aus Spermatozoën hat Kossel ein Cerebrin erhalten.

Aromatische Körper[5]).

Phenol C_6H_5OH und Kresole $CH_3 . C_6H_4 . OH$.

107. Im freien Zustande finden sich die genannten Hydroxylderivate des Benzol in geringen Mengen in faulenden Lösungen von Eiweissstoffen, wie Brandjauche, Inhalt des untern Theils vom Dünndarm oder des Dickdarms, auch in Reinculturen mancher Bacterien, bilden sich bei der Fäulniss von Eiweissstoffen oder Tyrosin sowie bei Behandlung derselben mit schmelzendem Aetzkali, kommen in Spuren frei im Pferdeharn vor, werden aber ziemlich allgemein in grösserer oder geringerer Menge beim Erhitzen von Harn mit Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure gebildet, indem bei dieser Behandlung ihre im Harn besonders der Pflanzenfresser ziemlich reichlich enthaltenen Aetherschwefelsäuren unter Wasseraufnahme gespalten werden. Der grössere Theil der Phenole in Fäulnissgemischen und im Harne besteht aus Parakresol,

---

[1]) Thierfelder, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14 S. 209, Thudichum a. a. O.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3 S. 332.

[3]) Med. chem. Untersuchungen, Berlin 1871 S. 486.

[4]) a. a. O.

[5]) Vergl. E. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 183. Brieger, ebendas. Bd. 4 S. 204.

der kleinere aus Phenol, ausserdem findet sich im Menschenharn noch Orthokresol.

Um die in Flüssigkeiten in freiem Zustande vorhandenen Phenole zu isoliren, destillirt man, bis eine Probe des Destillats beim Kochen mit Millon's Reagens*) nicht mehr roth gefärbt wird. Um auch die als Aetherschwefelsäuren im Harne enthaltenen Phenole zu erhalten, destillirt man mindestens 200 Cbcm. davon mit 50 Cbcm. rauchender roher Salzsäure, bis 50 bis 70 Cbcm. Destillat übergegangen sind. Die in beiden Fällen erhaltenen Destillate, welche ausser den Phenolen noch flüchtige Säuren, Indol u. s. w. enthalten können, werden mit Aetzalkali stark übersättigt und abermals destillirt. Es gehen Ammoniak und Indol über. Durch die rückständige Flüssigkeit wird nach ihrem Erkalten CO_2 geleitet und dann werden die freigewordenen Phenole abdestillirt. Das Destillat prüft man mittelst der unten bezeichneten Reactionen. Ist auf Indol, Skatol nicht Rücksicht zu nehmen, so übersättigt man das erste Destillat mit Natriumcarbonat und destillirt sogleich die Phenole ab.

Für die Trennung von Phenol, Parakresol und Orthokresol hat sich die Ueberführung derselben durch concentrirte Schwefelsäure in Sulfonsäuren und Darstellung der Barytsalze derselben bewährt. Die Destillate, welche Phenol und Kresole enthalten, werden hierzu mit Aetzkali stark alkalisch gemacht, eingedampft, dann angesäuert, mit Aether mehrmals ausgeschüttelt, die abgetrennte Aetherlösung verdunstet, der Rückstand mit Chlorcalcium getrocknet und destillirt. Die im Destillat erhaltenen Phenole werden darauf mit dem gleichen Gewicht concentrirter Schwefelsäure eine Stunde auf dem Wasserbade erwärmt, dann mit Wasser verdünnt, mit Baryt neutralisirt, filtrirt, bis nahe zur Krystallisation eingedampft und mit überschüssigem concentrirten Barytwasser versetzt. Nach 12stündigem Stehen wird das abgeschiedene basische parakresolsulfonsaure Barium abfiltrirt, das Filtrat durch CO_2 vom überschüssigen Baryt befreit, filtrirt, auf kleines Volumen abgedampft, abermals mit concentrirtem Barytwasser gefällt und nach 12 Stunden abfiltrirt. Das Filtrat wird durch einen Kohlensäurestrom von überschüssigem Baryt befreit und die filtrirte Flüssigkeit zur Trockne verdampft, der Rückstand, enthaltend das phenolsulfonsaure

*) Das Millon'sche Reagens erhält man nach Millon's Vorschrift (Compt. rend. T. 28 p. 40) durch Auflösen von Quecksilber im gleichen Gewicht starker Salpetersäure (1 Aequiv. N_2O_5 mit $4^1/_2$ Aequiv. H_2O. Siedepunkt 115 bis 120°) zunächst in der Kälte, zuletzt unter mässigem Erwärmen. Ist das Metall völlig gelöst, so fügt man 2 Vol. Wasser zu 1 Vol. der salpetersauren Lösung, lässt einige Stunden stehen, giesst die Flüssigkeit dann klar vom krystallinischen Niederschlag ab.

und das orthokresolsulfonsaure Barium, gewogen. Die Niederschläge von basisch parakresolsulfonsaurem Barium werden in Wasser zertheilt, mit CO_2 behandelt, filtrirt. Das Filtrat verdunstet, getrocknet und gewogen giebt das Gewicht des neutralen parakresolsulfonsauren Barium.

Orthokresol ist nur durch Bildung von Salicylsäure beim Schmelzen mit Aetzkali nachgewiesen. Dieselbe kann von der beim Schmelzen mit Aetzkali aus dem Parakresol entstehenden Paroxybenzoësäure durch Chloroform getrennt werden, da sich nur Salicylsäure löst. Die in Wasser gelöste und mit verdünnter Schwefelsäure angesäuerte Kalischmelze der Phenole wird mit Aether ausgeschüttelt, der Verdunstungsrückstand der Aetherlösung mit Chloroform ausgezogen, filtrirt und verdunstet.

Phenol schmilzt bei 42°, siedet bei 182,0°, löst sich in 15 Theilen Wasser bei gewöhnlicher Temperatur, färbt sich in nicht allzu verdünnter wässeriger Lösung mit Eisenchlorid violett; dieselbe Färbung erfahren damit seine sulfonsauren Salze.

Parakresol schmilzt bei 36°, siedet bei 199°, ist schwer löslich in Wasser, wird in wässeriger Lösung von Eisenchlorid blau gefärbt.

Orthokresol schmilzt bei 31—31,5°, siedet bei 185—186°.

Reactionen des Phenol und des Parakresol in wässerigen Lösungen:

1) Beim Kochen mit Millon's Reagens entsteht Rothfärbung der Flüssigkeit oder auch rother Niederschlag. Diese sehr empfindliche Reaction geben fast alle Phenolderivate, welche eine Hydroxylgruppe am Benzolring enthalten (Nasse).

2) Auf Zusatz von Bromwasser zu einer Probe der Lösung entsteht sofort oder alsbald eine milchige Trübung, dann Niederschlag von gelblichweissen, seideglänzenden Nadeln oder käsigen Flocken, im Wesentlichen Tribromphenol meist enthaltend. Empfindliche Probe.

3) Eine Probe der Flüssigkeit wird durch ein Paar Tropfen verdünnter Eisenchloridlösung violett bis blau gefärbt. Die Reaction der Flüssigkeit muss für diese nicht sehr empfindliche Probe völlig neutral sein.

Zur quantitativen Bestimmung des Phenols und der Kresole sind mehrere Methoden empfohlen. Die früher hauptsächlich benutzte Fällung mit Bromwasser, so lange Niederschlag entsteht, Abfiltriren und Auswaschen, Trocknen über Schwefelsäure und Wägen des Tribromphenols kann erhebliche Fehler ergeben.*) Für das Phenol giebt eine

*) Seubert, Arch. d. Pharm. 1881 Bd. 15 H. 5.
Beckurts, ebendas. 1886. Bd. 24 S. 561.
Rumpf, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 220.

Titrirmethode von Koppeschaar-Beckurts nach den Versuchen von Beckurts und von Rumpf gute Resultate. Für das Parakresol ist auch diese Methode ungenügend.

Brenzcatechin und Hydrochinon $C_6H_4(OH)_2$ [1]).

108. Brenzcatechin findet sich als Brenzcatechinschwefelsäure sehr häufig im Menschenharn in kleinen Mengen, reichlicher und regelmässig im Pferdeharn, fehlt aber im Harn von Thieren, die allein mit Fleisch gefüttert sind. Im Pferdeharn ist es auch im freien Zustande enthalten. Halliburton [2]) fand es in Cerebrospinalflüssigkeit.

Hydrochinon als Hydrochinonschwefelsäure ist nur im Harn von Menschen und Thieren gefunden, denen Benzol oder Phenol beigebracht war, vielleicht enthält auch der normale Harn sehr geringe Spuren davon. Resorcin ist in Organismen nicht gefunden.

Um aus dem Harne Brenzcatechin und Hydrochinon zu erhalten, wird derselbe stark mit Salzsäure angesäuert, $^1/_2$ Stunde auf siedendem Wasserbade digerirt, nach dem Erkalten mehrmals mit Aether extrahirt. Die Aetherlösungen werden wiederholt mit verdünnter Sodalösung geschüttelt, so lange diese noch gefärbt wird, um die Säuren zu entfernen, dann der Aether abdestillirt, der Rückstand mit gesättigter Lösung von $NaCl$ oder Na_2SO_4 versetzt, um Phenol und Kresol abzuscheiden, filtrirt, die mit Wasser verdünnte Lösung destillirt, um Phenol und Kresol ganz zu entfernen, nach dem Erkalten mit Aether extrahirt. Beim Verdunsten der abgegossenen Aetherauszüge bleiben Brenzcatechin und Hydrochinon als Syrup zurück, der krystallinisch erstarrt, wenn nicht sehr wenig Hydrochinon sich darin befindet. Dieser Rückstand in Wasser gelöst wird dann mit Bleiacetat gefällt, so lange Niederschlag entsteht, mit Vermeidung eines Ueberschusses vom Reagens. Hierdurch wird Brenzcatechin gefällt, Hydrochinon nicht. Der Bleiniederschlag wird in Wasser zertheilt, mit Schwefelsäure zerlegt, mit Aether geschüttelt. Beim Verdunsten der abgegossenen Aetherlösung bleibt Brenzcatechin in kaum gefärbten Prismen zurück, wenn seine Quantität nicht sehr gering ist. Die vom Bleiniederschlag abfiltrirte Flüssigkeit wird angesäuert und mit Aether extrahirt. Nach dem Verdunsten der abgegossenen Aetherlösung bleibt bei Anwesenheit von Hydrochinon ein gelber bis brauner Rückstand, der bald krystallinisch erstarrt. Durch

---

[1]) E. Baumann, a. a. O.

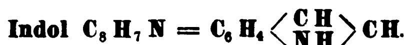
[2]) Journ. of physiol. Vol. 10 p. 232.

Umkrystallisiren aus heissem Benzol oder Toluol wird das Hydrochinon rein gewonnen.

Brenzcatechin schmilzt bei 104°, siedet ohne Zersetzung bei 245,5° und sublimirt schon vorher zu glänzenden Krystallblättchen. Es löst sich leicht in Wasser, Alkohol, Aether, kaltem Benzol, wird durch neutrales Bleiacetat gefällt. Durch Eisenchlorid wird seine wässerige Lösung grün, bei nachherigem Zusatz von Natriumbicarbonat oder Ammoniak violett gefärbt. Mit salpetersaurem Silber und etwas Ammoniak tritt Reduction von Silber ein, ebenso wird Fehlingsche Lösung beim Erwärmen reducirt. Durch Aetzalkali werden seine Lösungen unter Braunfärbung zersetzt.

Hydrochinon schmilzt bei 169°, löst sich 1 Theil in 17 Theilen Wasser bei 15°, leicht in Alkohol oder Aether, sehr schwer in kaltem Benzol. Es wird durch oxydirende Substanzen, z. B. beim Kochen mit Eisenchlorid, in Chinon verwandelt, dessen eigenthümlicher starker Geruch es leicht erkennen lässt. Das Chinon sublimirt schon bei gewöhnlicher Temperatur und bildet goldgelbe Prismen. Wässerige Lösung von Hydrochinon reducirt Silber aus Silbernitratlösung sogleich in der Kälte und wird durch Ammoniak braun gefärbt. Erhitzt man eine kleine Portion Hydrochinon im offenen Probirrohre, so färbt sich das Sublimat indigblau. Mit Millon's Reagens werden Lösungen von Hydrochinon in der Kälte gelb gefärbt; nach kurzer Zeit entsteht ein gelber Niederschlag, der sich beim Erhitzen ziegelroth färbt.

Indol $C_8H_7N = C_6H_4\left\langle{CH \atop NH}\right\rangle CH$.



109. Indol wurde zuerst von Baeyer[1]) durch Destillation der Producte starker Reduction von Indigo oder Isatin mit Zinkstaub, darauf durch Schmelzen von Orthonitrozimmtsäure mit Aetzkali unter Zusatz von Eisenfeilspähnen, dann von Baeyer und Caro[2]) reichlicher beim Durchleiten von Orthodiäthyltoluidin durch ein glühendes Rohr, ausserdem durch mehrere andere Reactionen[3]) gewonnen. Von Kühne[4]) und von Nencki[5]) wurde Indol meist neben Skatol durch Fäulniss von Ei-

[1]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 140 S. 295 und Supplbd. 7 S. 56. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 1 S. 17 u. Bd. 3 S. 885.

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 10 S. 1262.

[3]) Mauthner u. Suida, Monatshefte f. Chem. Bd. 10 S. 250.
Filetti, Gazz. chim. Vol. 13 p. 378.
Berlinerblau, Monatshefte f. Chem. Bd. 8 S. 180 etc.

[4]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 8 S. 206.

[5]) Ebendas. Bd. 8 S. 336.

weissstoffen oder Schmelzen derselben mit Aetzkali erhalten. In Fäces und Darminhalt von Menschen und Thieren findet sich Indol entweder neben Skatol oder ohne dasselbe sehr häufig und ist im Darmcanal offenbar durch Fäulnissprocesse gebildet[1]), scheint jedoch eben so wenig wie Skatol hierbei direct aus den Eiweisstoffen zu entstehen, sondern erst durch Zersetzung einer in alkoholhaltigem Aether löslichen Substanz[2]). Aus Tyrosin und seinen Derivaten ist es noch nicht gelungen Indol darzustellen.

Zur Darstellung von Indol werden nach E. und H. Salkowski[3]) 2 Kilo gut abgepresstes Fibrin in einem 12 Liter fassenden Kolben mit 8 Liter Wasser, dem 2 gr KH_2PO_4 und 1 gr $MgSO_4$ zugesetzt sind, und 200 Cbcm kalt gesättigter Lösung von Natriumcarbonat gemischt, dann mit einigen Cbcm Fleischmaceration und einigen Fleischstückchen versetzt. Den Kolben schliesst man mit einem Kork, welcher in der Bohrung eine Glasröhre mit aufgesetztem Gummischlauch trägt. Der Schlauch steht mit einer Waschflasche in Verbindung und trägt eine Klemme, die in den ersten Tagen etwas geöffnet bleibt. Man digerirt bei 42° unter zeitweise vorgenommenem Umschütteln. Sobald die Gasentwickelung nachlässt, wird die Klemme geschlossen. Nach 5—6 Tagen wird die Mischung direct destillirt, bis der Rückstand noch 1—1½ Liter beträgt. Das stark ammoniakalische Destillat wird in Salzsäure aufgefangen, zur Entfernung von Schwefelammonium und zur Klärung mit etwas Kupfersulfat versetzt, filtrirt und mit Aether ausgeschüttelt. Die ätherische Lösung wird bis auf ½ Liter abdestillirt, zweimal mit Natronlauge stark geschüttelt, um Phenol und Säuren zu entfernen und dann bei niederer Temperatur vollständig abdestillirt. Der zurückbleibende ölige Rückstand wird mit etwas Natronlauge versetzt und, um die letzten Reste von Phenol und Säuren zu entfernen, im Wasserdampfstrom destillirt, bis kein Indol mehr übergeht. Das Destillat wird wieder mit Aether geschüttelt; beim Verdunsten der ätherischen Lösung hinterbleibt das Indol zusammen mit Skatol als krystallinische Masse. Ausbeute ungefähr 3 gr. Indol.

Ueber die Trennung von Indol und Skatol siehe den folgenden Paragraphen.

Indol krystallisirt in Blättchen aus heisser wässeriger Lösung, in grossen atlasglänzenden Blättern aus Ligroin. Schmelzpunkt 52°, Siedepunkt 245—246°, es siedet nicht ohne Zersetzung, verflüchtigt sich leicht

---

[1]) Tappeiner, ebendas. Bd. 14 S. 2382. Ueber Indol bildende Bacterien vergl. Lewandowski, D. med. Wochenschr. 1890. S. 1186.

[2]) Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 13 S. 284.

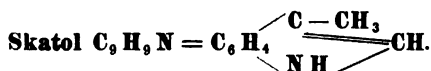
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 8 S. 462.

mit Wasserdämpfen. Die Dämpfe haben eigenthümlichen widerlichen Geruch. Es löst sich ziemlich leicht in heissem, weniger in kaltem Wasser, ist leicht löslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol, Ligroin und wird durch die letztere Flüssigkeit beim Schütteln damit wässerigen Lösungen des Indol entzogen. Es verbindet sich mit concentrirten, nicht mit verdünnten Säuren, mit concentrirter Salzsäure giebt es Verbindung, welche beim Kochen mit Wasser zersetzt wird; es verhält sich wie eine schwache Base. Bringt man in Benzol gelöstes Indol mit Pikrinsäure zusammen, so verbinden sie sich zu gleichen Molecülen und diese Verbindung scheidet sich in langen rothen, stark glänzenden, in kaltem Benzol oder Ligroin schwer löslichen Krystallen ab, die aus heissem Benzol gut umkrystallisirt werden können. Zur Gewinnung des Indol zerlegt man die Pikrinsäureverbindung durch Ammoniak, destillirt entweder im Wasserdampfstrome ab oder schüttelt die Lösung mit Ligroin aus, welches beim Verdunsten das Indol schön krystallisirt zurücklässt. Beim Erhitzen mit mässig starken Aetzalkalilaugen wird es nach Salkowski wenig oder garnicht zersetzt.

Reactionen: 1) Mit Salpetersäure, die salpetrige Säure enthält, giebt Indol eine noch bei sehr starker Verdünnung gut erkennbare Rothfärbung. Ist die Verdünnung nicht sehr bedeutend, so scheidet sich dann bald ein rother Niederschlag von salpetersaurem Nitrosoindol, $C_{16}H_{13}(NO)N_2, HNO_3$ nach Nencki[1]) aus, der sich sehr wenig in Wasser, leicht in Alkohol, gar nicht in Aether löst, sehr zersetzlich ist und trocken erhitzt verpufft.

2) Ein mit starker Salzsäure befeuchteter Fichtenspahn wird durch Indol in alkoholischer Lösung in kurzer Zeit kirschroth gefärbt.

3) Indollösung mit Nitroprussidnatriumlösung bis zur Gelbfärbung versetzt färbt sich auf Zusatz einiger Tropfen Natronlauge tief violettblau; auf Zusatz von Salzsäure oder Essigsäure wird die Farbe dann rein blau.[2])



110. Das Skatol (Pr. 3. Methylindol) ist von Brieger[3]) als Bestandtheil der menschlichen Fäces erkannt und seitdem häufig im Darminhalte von Menschen und Thieren neben Indol aufgefunden. Es bildet

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 8 S. 723.

[2]) Reaction von Legal, vergl. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 8 S. 447.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 10 S. 1027.

sich neben Indol beim Schmelzen von Eiweissstoffen mit Aetzkali,[1]) ebenso bei der Fäulniss der Eiweissstoffe.[2]) Aus 8 Tage lang gefaulter Gehirnmasse erhielt Nencki Skatol neben Spuren von Indol. Baeyer[3]) erhielt Skatol neben Indol bei Destillation der Reductionsproducte von Indigoblau mit Zinkstaub. Synthetisch ist von E. Fischer[4]) Skatol dargestellt durch Vermischen der Verbindung von Propionaldehyd und Phenylhydrazin mit dem gleichen Gewicht Chlorzink, Erhitzen, nachdem die heftige Reaction vorüber ist, noch 2 Minuten lang auf 180° und Destillation im Wasserdampfstrom, Aufnahme durch Ausschütteln und Umkrystallisiren in Ligroin.

Das Skatol krystallisirt ähnlich dem Indol in farblosen Blättchen, schmilzt bei 95°, Siedepunkt 265—266°, hat stechenden Fäcalgeruch, löst sich schwerer in Wasser als Indol, geht aber noch leichter bei der Destillation mit den Wasserdämpfen über als Indol, löst sich leicht in Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol, vereinigt sich mit Salzsäure zu krystallisirter Verbindung $(C_9H_9N)_2HCl$, welche in Alkohol leicht löslich, in Wasser sowie Aether unlöslich ist. Seine Lösung in Benzol mit gleichfalls in Benzol gelöster Pikrinsäure versetzt, giebt krystallinischen Niederschlag der pikrinsauren Verbindung, wie Indol. Beim Erhitzen mit mässig verdünnter Natronlauge wird Skatol nicht zersetzt.

Reactionen: 1) Mit salpetrige Säure enthaltender Salpetersäure giebt Skatol in wässeriger Lösung keine Rothfärbung, sondern weissliche Trübung.

2) Es löst sich in concentrirter Salzsäure mit violetter Farbe.

3) Ein mit Salzsäure befeuchteter Fichtenspahn wird durch Skatollösung in Wasser oder Alkohol nicht roth gefärbt; wird dagegen ein mit Skatol in heisser alkoholischer Lösung getränkter Fichtenspahn in kalte starke Salzsäure getaucht, so färbt er sich zunächst kirschroth, die Farbe geht nach einiger Zeit in ein dunkles Violett über. Die Reaction ist nicht so empfindlich wie bei Indol. (E. Fischer[5]).

4) Auf Zusatz von Nitroprussidnatrium und Natronlauge färbt sich Skatollösung intensiv gelb; versetzt man dann mit $^1/_2$ Volumen Eisessig,

---

[1]) Nencki, Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 17 S. 97.

[2]) Nencki, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1878 No. 47 u. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 371 u. Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 19 S. 466.
E. u. H. Salkowski, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 12 S. 651.
Brieger, ebendas. Bd. 12 S. 1985, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 414 u. Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 17 S. 124.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 13 S. 2339.

[4]) Ebendas. Bd. 19 S. 1563 u. Ann. Chem. Pharm. Bd. 236 S. 137.

[5]) a. a. O. in den Annal.

erhitzt zum Sieden und erhält darin einige Minuten, so färbt sich die Flüssigkeit allmälig violett. (Salkowski.)[1])

5) Beim Erwärmen mit Schwefelsäure entsteht eine prachtvolle purpurrothe Färbung. (Ciamician und Magnanini.)[2])

Zur Trennung des Skatol vom Indol benutzt man seine geringe Löslichkeit in Wasser, leichtere Fällbarkeit bei Zusatz von Wasser zur alkoholischen Lösung und leichteres Uebergehen bei dem Destilliren mit Wasserdampf.

Bei der Destillation der Pikrinsäureverbindungen mit Natronlauge geht Skatol unverändert in das Destillat über, Indol nicht.[3])

Indoxyl C_8H_6N, OH.

111. Indoxyl wurde von Baumann und Brieger[4]) durch Zerlegung von indoxylschwefelsaurem Kali (aus Hundeharn nach Indolfütterung erhalten), mit Salzsäure als bald sich zersetzende ölige Streifen und Tropfen darsgestellt, dann von Baeyer[5]) aus Indoxylsäure durch Erhitzen bis zu ihrem Schmelzpunkt oder Kochen mit Wasser unter Kohlensäureentwickelung gewonnen. Das Indoxyl ist sehr zersetzlich, entwickelt mit verdünnten Säuren einen unangenehmen Geruch und wandelt sich in eine amorphe, rothe Substanz um. In concentrirter Schwefelsäure oder Salzsäure ist es beständiger. Seine Lösung giebt bei Zusatz von Eisenchlorid und Salzsäure schon in der Kälte Indigblau, ebenso oxydirt es sich in alkalischer Lösung besonders bei Zusatz von Ammoniak bis zur alkalischen Reaction an der Luft zu Indigo. Bei Zusatz von Natriumcarbonat und Isatin bildet sich Indirubin. Eine concentrirte Lösung von Indoxyl in Kalilauge mit pyroschwefelsaurem Kali behandelt, bildet indoxylschwefelsaures Kali. Alkalische Lösung von Indoxyl lässt allmälig an der Luft Indigblau entstehen. Mit Eisenchlorid ohne Säurezusatz giebt es eine weisse amorphe Substanz, welche mit Salzsäure sofort Indigo entstehen lässt.

Skatoxyl C_9H_8N, OH[6]) entsteht wahrscheinlich bei Spaltung der im menschlichen Harne vorkommenden Skatoxylschwefelsäure durch Säuren und giebt hierbei einen rothen Farbstoff, der mit Zinkstaub erhitzt Skatol liefert.

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 8 S. 448.
2) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 21 S. 1928.
3) Ebendas. Bd. 13 S. 2339.
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3 S. 254.
5) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 14 S. 1744.
6) Brieger, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 414. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 10 S. 1031.

Indirubin $C_{16}H_{10}N_2O_2$.

112. Das Indirubin[1]), isomer mit Indigblau, findet sich im käuflichen Indigo, bildet sich neben Indigblau bei der Zersetzung von Indoxylschwefelsäure (und Indoxylglucuronsäure) im Harne durch Salzsäure und mässiger Oxydation und ist im reinen Zustande in braunrothen, glänzenden Nadeln von Baeyer[2]) erhalten durch Einwirkung von Indoxyl auf Isatin in Alkohol bei Zusatz von Natriumcarbonat, früher bereits reichlich durch Reduction von Isatinchlorid mit Zinkstaub dargestellt. Auch aus Isatin entsteht es durch Reduction. Indigoblau geht bei der Sublimation zum Theil in Indirubin über. In reinem Zustande wurde es aus käuflichem Indigo sowie aus dem Harn zuerst von Rosin[3]) isolirt. Aus dem Harn gewinnt man es nach Rosin in folgender Weise:

Etwa 300 Liter von geeignetem Harn (Darmkranheiten, Pferdeharn) werden portionsweise (zu 5 Litern) mit basischem Bleiacetat vollständig ausgefällt und filtrirt. Das Filtrat wird mit Salzsäure versetzt, wieder filtrirt, mit soviel Salpetersäure versetzt, dass auf ein Liter Flüssigkeit etwa 20 gr Salpetersäure kommen, und sofort in grossem Kolben bis nahe zum Sieden erhitzt. Wenn die Farbe dunkelkirschroth geworden ist, kühlt man rasch ab und fügt Soda in Substanz bis zur schwach sauren Reaktion hinzu. Die Flüssigkeit trübt sich, der Farbstoff fällt aus und wird durch ein mehrfach zusammengelegtes Filter, welches so gross sein soll, dass sämmtliche Harnportionen nach einander filtrirt werden können, abfiltrirt. Indigoroth, Indigoblau und einige andere Farbstoffe bleiben auf dem Filter, das Filtrat ist ganz frei von Indigoroth. Der Rückstand wird mit kohlensaurem Natron und Wasser gewaschen, getrocknet und darauf mit Chloroform am Rückflussfühler auf dem Wasserbad ausgekocht, bis sich dasselbe nicht mehr schön dunkelpurpurn, sondern blau färbt. Die abfiltrirten und vereinigten Chloroformauszüge werden abdestillirt und zwar soweit, bis das Indigoroth (verbunden mit etwas Indigoblau) ausfällt. Jetzt lässt man erkalten, filtrirt das ausgefallene Indigoroth ab und wäscht mit kaltem Chloroform nach, bis alle braunen Verunreinigungen möglichst entfernt sind und das Filtrat schön purpurfarben abläuft. Der Rückstand, welcher immer noch Indigoblau und Spuren von braunen Verunreinigungen enthält, wird so lange mit immer neuen Mengen Aether am Rückflusskühler gekocht, als noch Indigoroth in Lösung geht. Die vereinigten Aetherlösungen destillirt man ab, bis sich Krystalle abzuscheiden beginnen, filtrirt nach 24 Stunden und krystallisirt noch einmal um. Die Ausbeute beträgt kaum 1 gr.

Indirubin krystallisirt in verzweigten Nadeln oder rhombischen Blättchen, es löst sich leicht in Alkohol, Aether, Benzol, Chloroform, besonders leicht in heissem, Eisessig und wird aus der essigsauren Lösung durch Wasser und Natriumcarbonat gefällt. Beim Verdünnen der alkoholischen Lösung mit Wasser scheidet es sich in krystallinischen

[1]) Schunk, Mem. of Manchester Phil. Soc. 2. Ser. T. 14 p. 185.
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 12 S. 457 u. Bd. 14 S. 1745.
[3]) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 123 S. 519.

Flocken aus. Es widersteht der Oxydation kräftiger als Indigblau. Mit Traubenzucker in alkalischer Lösung erwärmt geht es in Indirubinweiss über, mit concentrirter Schwefelsäure bildet es Indirubinsulfosäure. Beim Erhitzen auf 295—310° sublimirt es unter Bildung von violettrothen Dämpfen. Bei der spectroskopischen Untersuchung zeigen alkoholische Lösungen des Indirubin einen Streifen im Grünen.

Um freies Indirubin im Harn nachzuweisen, neutralisirt man denselben mit Natriumcarbonat, schüttelt mit Aether aus und verdunstet den roth gefärbten Aether im Schälchen. Der Rückstand muss sich in Alkohol mit schön rother Farbe lösen und die alkoholische Lösung muss mit etwas Soda und Traubenzucker erwärmt farblos werden, beim darauffolgenden Schütteln mit Luft die rothe Farbe wieder annehmen (Rosin).

Indigblau $C_{16}H_{10}N_2O_2$.

113. Als Oxydationsproduct von Indoxyl findet sich Indigblau hier und da an der Oberfläche von faulendem Harn abgeschieden als kupferroth metallisch glänzendes, dünnes Häutchen. Es bildet sich ferner nicht selten nach Zusatz starker Mineralsäuren zum Urin, besonders Pferdeharn und wird gewöhnlich aus dem Harne erhalten durch Zusatz des gleichen Volumen einer etwas Chlor oder Eisenchlorid enthaltenden Salzsäure, indem hierdurch die im Harne vorhandene Indoxylschwefelsäure gespalten und das Indoxyl sogleich zu Indigblau oxydirt wird. Käuflicher Indigo, aus Pflanzen dargestellt, entsteht auf unbekannte Weise, doch entschieden gleichfalls durch eine Oxydation aus einer im Pflanzenreiche weit verbreiteten Substanz, die mit Indoxylschwefelsäure nicht übereinstimmt.

Auf sehr verschiedene Weise kann Indigblau aus Indolverbindungen dargestellt werden. Es bildet sich durch Einwirkung von Indigweiss $C_{16}H_{12}N_2O_2$ auf indifferenten Sauerstoff unter Austritt von Wasser. Es entsteht ferner durch Einwirkung von Ozon auf Indol in geringer Menge, ausserdem durch Einwirkung reducirender Stoffe auf Isatin, Amidooxindol, Isatinchlorid u. s. w. Orthonitrophenylpropiolsäure in verdünnter Natronlauge oder Lösung von Aetzbaryt oder Natriumcarbonat zum Sieden erhitzt und mit etwas Traubenzucker oder Milchzucker versetzt, giebt Abscheidung von krystallinischem Indigblau*). Ebenso bildet sich Indigblau durch Condensation von o-Nitrobenzaldehyd mit Aceton in

*) Ad. Baeyer, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 11 S. 1228 u. 1296, Bd. 12 S. 456, Bd. 13 S. 2258; ferner Bd. 14 S. 1741. Sommaruga, ebendas. Bd. 11 S. 1355.

alkalischer Lösung[1]), durch Schmelzen von Phenylglycocoll mit Aetzkali[2]) und auf manche andere Weise. Dasselbe ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, verdünnten Säuren und Alkalien, sehr wenig löslich in Chloroform, löslich in heissem Anilin mit blauer Farbe, in geschmolzenem Paraffin mit purpurrother Farbe und kann aus beiden Lösungsmitteln krystallisirt erhalten werden; aus heissem Terpentinöl krystallisirt es in schönen blauen Tafeln. Gegen 300° verflüchtigt es sich, bildet schön purpurroth gefärbten Dampf und schlägt sich an kühleren Stellen in prismatischen Krystallen wieder nieder, die kupferrothen Metallglanz zeigen und im durchfallenden Lichte tief blau erscheinen. Beim Sublimiren zersetzt sich ein Theil des Indigo zu Kohle, CO_2 und Anilin. Mischt man feinpulveriges Indigblau mit Eisenvitriol, überschüssigem gelöschten Kalk und ausgekochtem Wasser in einer ganz damit gefüllten Flasche und lässt stehen, so geht es in Indigweiss über, lässt man dann die mit Heber klar abgezogene Lösung ruhig an der Luft stehen, so scheidet sich Indigblau wieder ab. Auch durch Mischung in verschlossener gefüllter Flasche von Indigblau mit heissem Alkohol, sehr starker Natronlauge und etwas Traubenzucker erhält man Indigweiss. Beim Stehen dieser Mischung an der Luft scheidet sich Indigo in Krystallen aus. Ein oder mehrere Atome Wasserstoff in der Benzolgruppe des Indigblau können ohne wesentliche Aenderung der Farbe durch andere Atome oder Atomgruppen (Br, NH_2, SO_3H) substituirt werden, während die Anfügung von 2 Atomen Wasserstoff an die chinonähnlich angefügten und mit einander verbundenen Sauerstoffatome sofort die blaue Farbe verschwinden lässt. Unter den Substitutionsproducten des Indigo sind von besonderer Wichtigkeit die Indigblauschwefelsäure $C_{16}H_8N_2O_2$, $(SO_3H)_2$ und Phönicinschwefelsäure $C_{16}H_9N_2O_2$, SO_3H, welche beide durch Erwärmen von pulverigem Indigblau mit concentrirter Schwefelsäure und Eintragung der Lösung in Wasser dargestellt werden. Die Phönicinschwefelsäure scheidet sich aus der sauren Lösung in Flocken aus, löst sich aber in destillirtem Wasser. Die Lösungen dieser Sulfosäuren geben ihren Farbstoff an eingelegte Wollenfäden ab, werden beim Erhitzen mit Salpetersäure entfärbt, mit etwas Traubenzucker und Natriumcarbonat im Ueberschusse versetzt, beim Kochen entfärbt (Bildung von Indigweissschwefelsäure), beim nachherigen Schütteln mit Luft wieder blau gefärbt. Die Lösungen der Indigblau- und der Phönicinschwefelsäure und ihrer Alkaliverbindungen absorbiren sehr kräftig das Licht zwischen den Frauenhofer'schen Linien

---

[1]) Baeyer u. Drewsen, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 16 S. 2205.
[2]) Heumann, ebendas. Bd. 23 S. 3043.

C und D; nahe vor letzterer Liniengruppe und bei hinreichender Dicke der Schicht greift der Absorptionsstreifen über D nach dem Gelbgrün hinüber.

Zum Nachweis von Indigblau eignet sich besonders die Sublimirbarkeit und Bildung purpurrother Dämpfe beim starken Erhitzen im trocknen Probirrohr, das beschriebene Verhalten gegen stark alkalische Traubenzuckerlösung, Wiederblaufärbung der Mischung beim Schütteln mit Luft, Löslichkeit des Indigblau beim Erwärmen mit concentrirter Schwefelsäure und das geschilderte Verhalten der wässerigen Lösung dieser Mischung. Um diese Proben anzustellen, sammelt man den zu prüfenden Farbstoff auf einem in die Trichterenge dicht eingesetzten Asbestpfropf an Stelle des Papierfilters, wäscht mit Wasser, dann mit Alkohol (Lösung des fast stets zugleich vorhandenen Indirubin), trocknet und benutzt Theile dieses Pfropfes zu den Reactionen.

Ein dem Indigoblau vielleicht entsprechender Farbstoff, der sich etwa zum Skatoxyl ebenso verhält, wie das Indigoblau zum Indoxyl, wurde von Brieger[1]) und von Mester[2]) aus dem Harn von Hunden, denen Skatol beigebracht war, erhalten. Er ist in diesen Harnen in Form eines Chromogens zu finden, welches jedenfalls nur zum Theil Skatoxylschwefelsäure ist, und bildet sich aus demselben unter Einwirkung starker Salzsäure jedenfalls durch Oxydation. Er ist amorph, löst sich in Salzsäure und Schwefelsäure mit kirschrother, in Alkalien und in Ammoniak mit gelber, in Alkohol mit dunkelvioletter Farbe. Er ist unlöslich in Wasser; frisch ausgeschieden löst er sich in Aether, einige Zeit an der Luft aufbewahrt nur wenig in Aether. Bei der Reduction mit Zinkstaub liefert er Skatol.

Skatolcarbonsäure C_9H_8N, CO_2H.

114. wurde zuerst von E. u. H. Salkowski[3]) aus längere Zeit gefaultem Fibrin und anderen Eiweissstoffen (in 1 Fall aus 2 Kilo feuchten Fibrins nach 26tägigem Faulen 1,3 gr) erhalten. Ihr Vorkommen im Harn ist wahrscheinlich, aber noch nicht bewiesen.[4]) Zu ihrer Darstellung werden die gefaulten Massen im Wasserdampfstrome destillirt zur Entfernung der fetten Säuren, darauf die ausgeschiedenen harzigen Massen abfiltrirt. Nach 24stündigem Stehen tritt Abscheidung weisser Körnchen der Skatolcarbonsäure ein. Durch Einkochen der Mutterlauge auf die

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 418.
[2]) Ebendas. Bd. 12 S. 130.
[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 13 S. 2217.
Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 8.
[4]) Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 13 S. 284.

Hälfte ist noch eine zweite Abscheidung von Skatolcarbonsäure zu erhalten; ein Theil bleibt indessen stets in Lösung. Dieser Theil geht beim Ausschütteln mit Aether in diesen über zusammen mit den aromatischen Oxysäuren, während Bernsteinsäure zum grössten Theil zurückbleibt, resp. sich beim Concentriren der ätherischen Lösung abscheidet. Aus dem Rückstande der ätherischen Lösung die Skatolcarbonsäure zu isoliren, gelingt nur durch Behandeln mit lauwarmem Wasser, in dem die Oxysäuren sich lösen, die Skatolcarbonsäure zum Theil ungelöst bleibt. Zur Reinigung löst man die erhaltene Rohsäure zunächst in Aether, verdunstet und krystallisirt den Rückstand aus heissem Wasser oder heissem Benzol.

Die Skatolcarbonsäure erscheint als in Alkohol und Aether leicht, in Wasser wenig lösliche Krystallblättchen vom Schmelzpunkt 164°. Beim höheren Erhitzen zerfällt sie in Kohlensäure und Skatol. Unreine wässerige Lösungen zersetzen sich schon beim Verdampfen.

Reactionen: 1) Versetzt man eine Lösung der Säure (1 : 1000) mit einigen Tropfen reiner Salpetersäure von 1,2 spec. Gew., dann mit wenigen Tropfen Kaliumnitrit (2 pCt.), so färbt sich die Lösung ziemlich schnell kirschroth und trübt sich dann unter Ausscheidung eines rothen Farbstoffs. [1])

2) Versetzt man sie mit dem gleichen Volumen Salzsäure von 1,2 spec. Gew., dann mit einigen Tropfen Chlorkalklösung (1—2 pCt.), so färbt sie sich allmälig purpurroth. [1])

3) Versetzt man sie mit einigen Tropfen Salzsäure, dann mit 2—3 Tropfen einer ganz verdünnten Eisenchloridlösung und erhitzt, so färbt sich die Mischung noch vor dem Sieden intensiv violett. [1])

Synthetisch ist Skatolcarbonsäure dargestellt durch Erhitzen des in alkoholischer Schwefelsäure gelösten Hydrazins der Propionylameisensäure [2]) und durch Erhitzen von Skatol und metallischem Natrium im CO_2 strome [3]), doch hat diese synthetisch dargestellte Skatolcarbonsäure nicht die von Salkowski angegebenen Reactionen gegeben.



Skatolessigsäure $C_6H_4\langle\begin{smallmatrix}C.CH_3\\NH\end{smallmatrix}\rangle C.CH_2.CO_2H$.

115. Diese Verbindung ist von Nencki unter den Producten der Zersetzung von Serumeiweiss durch anaërobe Spaltpilze gefunden, [4]) am

[1]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 24. Weitere Reactionen siehe Salkowski, ebendas. Bd. 12 S. 216, 218, 220.

[2]) Wislicenus u. Arnold, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 20 S. 3394.

[3]) Ciamician u. Magnanini, ebendas. Bd. 21 S. 1925.

[4]) Monatshefte f. Chem. Bd. 10 S. 506.

reichlichsten trat sie nach 3—4wöchentlicher Gährung von Eiweiss mit Rauschbrandbacillen auf.

Die Darstellung geschah in folgender Weise: Die Massen wurden mit Oxalsäure versetzt und destillirt, der Destillationsrückstand noch heiss filtrirt und eingedampft. Nach Abtrennung der ausgeschiedenen Oxalsäure u. s. w. wurde mit Aether extrahirt, der Rückstand der Aetherauszüge mit überhitztem Wasserdampf destillirt, wobei Fettsäuren und Phenylpropionsäure übergehen, während Hydroparacumarsäure und Skatolessigsäure zurückbleiben. Die letztere ist in Wasser weniger löslich als Hydroparacumarsäure und kann durch Umkrystallisiren von dieser getrennt werden.

Sie krystallisirt in Prismen und unregelmässig gezackten 6seitigen Tafeln, ist in kaltem Wasser wenig löslich, leichter in heissem, überhaupt leichter löslich als die Skatolcarbonsäure; in Alkohol und Aether, ebenso in verdünnter Essigsäure ist sie leicht löslich. Schmelzpunkt 134⁰. Die wässerige Lösung giebt mit Eisenchlorid eine weissliche Trübung, die beim Erwärmen ziegelroth, in concentrirteren Lösungen feuerroth bis kirschroth wird. Versetzt man eine Lösung mit concentrirter Kaliumnitritlösung und säuert dann mit Essigsäure an, so bildet sich alsbald ein gelbes Krystallmagma der Nitrosoverbindung $C_9H_7(NO)N, C_2H_3O_2$ (Reaction auf Skatolessigsäure), welche bei 135⁰ unter Zersetzung schmilzt.

Aromatische Aetherschwefelsäuren.

116. Aetherschwefelsäuren aromatischer Hydroxylverbindungen treten im Harne auf, wenn die letzteren (Phenol, Kresol u. s. w.) in das Blut entweder durch Resorption vom Darme her oder durch die Haut oder nach Injection unter die Haut eingebracht sind, oder in den Organismus Stoffe gelangt sind, die in ihm zu solchen Hydroxylverbindungen umgewandelt werden (Benzol, Indol, Paroxybenzoësäure, Tyrosin u. s. w.). Die durch Fäulnissprocesse im Darmcanal gebildeten Phenol, Kresol, Indol, Skatol treten als Aetherschwefelsäuren im Harne auf; auch im menschlichen Schweiss finden sich aromatische Aetherschwefelsäuren.[1])

Diese aromatischen Aetherschwefelsäuren werden aus dem Harne erhalten als Kaliumverbindungen, synthetisch dargestellt durch Einwirkung von pyroschwefelsaurem Kalium auf die Kaliumverbindung der Paarlinge z. B. $C_6H_5, OK + K_2S_2O_7 = C_6H_5O, SO_2, OK + K_2SO_4$. Sie wurden zuerst aufgefunden, dargestellt und synthetisch ge-

[1]) Kast, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11 S. 501.

bildet von Baumann.*) Die freien Aethersäuren sind sehr unbeständig, selbst die krystallisirten Salze zersetzen sich leicht allmälig an feuchter Luft. Bei 150—160° gehen viele derselben durch Umlagerung in die Salze der isomeren und beständigeren Sulfosäuren über z. B. $C_6H_5O, SO_2, OK = C_6H_4 \begin{cases} OH \\ SO_3K. \end{cases}$ In Wasser sind die Salze dieser Aethersäuren leicht, in heissem Alkohol schwer, in kaltem absoluten Alkohol gar nicht löslich. Kochen mit stark alkalischen Lösungen zersetzt sie wenig oder gar nicht, dagegen zersetzen sie sich beim Erhitzen mit Wasser über 100° sehr bald. Fäulniss greift sie schwierig oder gar nicht an, kurzes Erhitzen mit verdünnten organischen Säuren zerlegt sie nicht bemerkbar, dagegen werden sie durch Kochen mit Mineralsäuren schnell unter Betheiligung von je 1 Mol. H_2O für jedes Aequivalent abgespaltener Säure zu Hydroxylverbindung und saurem schwefelsauren Salz zersetzt. Es krystallisiren ihre Kaliumsalze in rhombischen Tafeln ähnlich dem Cholesterin.

Phenolschwefelsäure C_6H_5, SO_4H.

117. Geringe Mengen von phenolschwefelsaurem Kalium finden sich stets im Harne von Pferden, sehr häufig in sehr geringen Mengen auch im Harne von Menschen, Hunden, reichlich im Harne von Menschen und Thieren, denen Phenol auf die Haut oder in Wunden oder in den Darm gebracht ist, auch bei energischer Fäulniss im Darme, besonders nach Einbringung von Tyrosin. Zur Darstellung dieses Kaliumsalzes werden nach Baumann 8—10 Liter Harn von Hunden, denen täglich mehrere Gramme Phenol beigebracht sind, zum Syrup verdunstet und der Rückstand mit 96procentigem Alkohol aufgenommen, das alkoholische Filtrat kalt mit einer Lösung von Oxalsäure in Alkohol versetzt, so lange Niederschlag entsteht, nach 10 Minuten filtrirt, mit Aetzkali bis zur schwach alkalischen Reaction versetzt, filtrirt und der beim Verdunsten erhaltene Syrup recht kalt, am Besten unter 0° stehen gelassen. Von der sich abscheidenden blättrigen Krystallmasse wird die Mutterlauge abgesaugt und die Krystalle aus kochendem Alkohol umkrystallisirt.

Synthetisch erhält man phenolschwefelsaures Kalium durch Zusammenbringen von 100 Theilen Phenol mit 80 bis 90 Theilen Wasser und 60 Theilen Aetzkali in einem geräumigen Kolben, Mischung der

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 12 S. 69, Bd. 13 S. 285.
Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1 S. 60, Bd. 2 S. 335, Bd. 3 S. 250.
Baumann u. Herter, ebendas. Bd. 1 S. 244.
Baumann, ebendas. Bd. 6 S. 183.

Masse und Zusatz von 125 Theilen feingepulvertem Kaliumpyrosulfat allmälig in kleinen Portionen, sobald die Mischung bis auf 60—70° erkaltet ist. Man digerirt bei 60—70° 8—10 Stunden unter häufigem Umschütteln, extrahirt dann die Masse mit siedendem 95procentigem Alkohol, filtrirt und krystallisirt das sich als Krystallbrei ausscheidende phenolschwefelsaure Kalium aus heissem Alkohol um. Die Ausbeute beträgt 25—30 pCt. von der Menge des angewendeten Phenols. Die Reaction verläuft bei 60—70° am schnellsten. Die Färbung der Flüssigkeit soll bei derselben eine grünliche sein und nie saure Reaction eintreten (gelbrothe Färbung), da sich sonst die gepaarte Schwefelsäure zersetzt. Aus warm gesättigtem Weingeist krystallisirt das Salz beim Erkalten in grossen wasserhellen Tafeln.

Kresolschwefelsäure $C_6H_4\langle{}^{CH_3}_{SO_4H}$

118. Im Pferdeharn und wahrscheinlich im Harne vieler anderen Säugethiere findet sich Kresolschwefelsäure und zwar hauptsächlich die Parakresolverbindung reichlicher als Phenolschwefelsäure neben sehr wenig der Ortho- und vielleicht auch Metaverbindung.[1] Die Darstellung der Kaliumverbindung aus dem Harne geschieht in derselben Weise, wie es im vorigen Paragraphen für das phenolschwefelsaure Kalium geschildert ist, ebenso die synthetische Gewinnung.

Bisweilen ist der Pferdeharn so reich an kresolschwefelsaurem Kalium, dass dasselbe nach Eindampfen des Harns zum Syrup beim Stehen des letzteren in der Kälte auskrystallisirt. Diese Krystallisation tritt leichter ein, wenn der zum Syrup verdunstete Harn mit Alkohol aufgenommen, der Alkoholauszug zum dünnen Syrup verdunstet und bei Winterkälte einer Temperatur von unter 0° mehrere Tage lang ausgesetzt wird.

Brenzcatechinschwefelsäure $C_6H_4\langle{}^{OH}_{SO_4H}$ und $C_6H_4, (SO_4H)_2$.

Brenzcatechinschwefelsaures Salz findet sich stets im Pferdeharne, häufig auch im Menschenharne, besonders nach Einführung von Phenol. Im letzteren Falle findet sich im Harne zugleich etwas hydrochinonschwefelsaures Salz. Eine Isolirung dieser Verbindungen aus dem Harne ist noch nicht ausführbar. Die Kaliumverbindung der Brenzcatechinmonätherschwefelsäure bildet ganz den Salzen der Aetherschwefelsäuren vom Phenol und Kresol ähnliche fettige rhombische Blättchen, die leicht löslich in Wasser sind, das brenzcatechindischwefelsaure Kalium stellt dagegen ein in Alkohol nicht lösliches Krystallpulver dar[2]). Die brenz-

[1]) Preusse, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2 S. 355.

[2]) Baumann, a. a. O.

catechinmonoschwefelsauren Salze geben in wässeriger Lösung mit Eisenchlorid eine violette Färbung, die di-schwefelsauren Verbindungen keine bestimmte Färbung.

Zum Nachweis dieser Aetherschwefelsäuren wird der Harn auf kleineres Volumen eingedampft und mit Aether ausgeschüttelt, Phenol, Kresole werden, wenn vorhanden, dabei verdampfen und die Dihydroxylverbindungen in den Aether übergehen. Wird dann der Harn mit starker Salzsäure destillirt, bis $^1/_3$ der Flüssigkeit übergegangen ist, und der Rückstand nach dem Erkalten mit Aether ausgezogen, so werden die Phenole, welche mit Schwefelsäure gepaart im Harne enthalten sind, in's Destillat, und die Dihydroxylbenzole (Brenzcatechin, Hydrochinon) in die ätherische Lösung übergehen. Die Untersuchung der Destillate und Aetherauszüge geschieht nach den in § 107 u. 108 gegebenen Gesichtspunkten.

Indoxylschwefelsäure C_8H_6N, SO_4H.

Das Indican des Harns.

119. Indoxylschwefelsaures Kalium wurde von Baumann und Brieger[1]) in cholesterinähnlichen, rhombischen, blätterigen, farblosen Krystallen aus dem gesammelten Harne eines grossen Hundes dargestellt, dem sie gegen 20 gr Indol im Laufe von 5 Tagen in den Magen gebracht hatten. G. Hoppe-Seyler[2]) erhielt es aus Hundeharn nach Eingabe von Orthonitrophenylpropiolsäure, in geringer Menge auch isolirt aus normalem Hundeharn bei Fleischfütterung[3]), Otto[4]) gewann dasselbe aus dem Harne eines an gastrischen Störungen leidenden Diabetikers.

Die Darstellung aus dem Harne geschieht nach der von G. Hoppe-Seyler[5]) angegebenen Modification des Verfahrens von Baumann und Brieger. Der zum dünnen Syrup abgedampfte Harn wird mit 96procentigem Alkohol versetzt, so lange der entstehende Niederschlag noch vermehrt wird. Die abfiltrirte alkoholische Lösung wird mit dem gleichen Volumen Aether von 0,722 spec. Gew. versetzt, die nach 24 Stunden abgegossene klare Flüssigkeit mit concentrirter alkoholischer Oxalsäurelösung gefällt, so lange Niederschlag entsteht, schnell filtrirt, und mit concentrirter Lösung von Kaliumcarbonat bis zur schwach alkalischen Reaction versetzt. Nach nochmaliger Filtration wird der Aether von

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3 S. 254.
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 403.
3) Ebendas. Bd. 8 S. 79.
4) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 33 S. 607.
5) Zeitsch f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 423.

der Lösung abdestillirt, der Rest zum dicklichen Syrup eingedampft, dieser mit der 15 bis 20fachen Menge 99,8procentigem Alkohol in der Kälte aufgenommen und in einem verschlossenen Gefäss einen Tag stehen gelassen. Alsdann wird der Niederschlag abfiltirirt, mit 96procentigem Alkohol ausgekocht und die Lösung zur Krystallisation stehen gelassen. Das Filtrat wird mit Aether gefällt, von den zuerst ausfallenden Schmieren schnell abgegossen und in der Kälte längere Zeit stehen gelassen. Es scheiden sich dann ebenso wie aus dem alkoholischen Auszug des Niederschlags bald Blättchen von indoxylschwefelsaurem Kali aus, die durch Umkrystallisiren aus heissem Alkohol weiter zu reinigen sind.

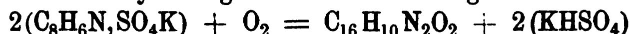
Von Baeyer*) wurde synthetisch durch Einwirkung von pyroschwefelsaurem Kalium auf eine kalische Lösung von Indoxyl indoxylschwefelsaures Kalium mit den von Baumann geschilderten Eigenschaften dargestellt.

Das indoxylschwefelsaure Kalium ist farblos, sehr löslich in Wasser, schwer in kaltem, leichter in heissem Alkohol löslich; die Krystalle gleichen denen des phenol- oder kresolschwefelsauren Kalium. Beim Erwärmen der wässerigen Lösung mit verdünnter Salzsäure wird die Indoxylschwefelsäure gespalten in Schwefelsäure und Indoxyl, das letztere scheidet sich in öligen Streifen und Tropfen aus, die sich selbst bei völligem Ausschluss des atmosphärischen Sauerstoffes unter Rothfärbung der Flüssigkeit schnell zersetzen. Wirkt gleichzeitig mit der Salzsäure eine mässig oxydirende Substanz, am Besten ein wenig Eisenchlorid, so färbt sich die Flüssigkeit langsam in der Kälte, schneller beim Erwärmen grün, dann blau, und es schlägt sich Indigoblau nieder, welches etwas von jenem rothen Farbstoff enthält. Bei der einfachen Spaltung durch Salzsäure tritt mit dieser Färbung und Abscheidung öliger Tropfen zusammen ein eigenthümlicher, von Indol und Skatol verschiedener Fäcalgeruch auf, der alsbald wieder verschwindet, wenn die öligen Streifen verschwunden sind und ein amorpher, brauner, in Wasser unlöslicher, in Alkohol, Aether, Chloroform löslicher Körper, bei Luftzutritt auch etwas Indigo sich niedergeschlagen hat.

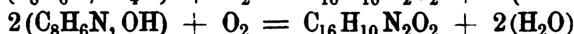
Indoxylschwefelsaures Kalium in wässeriger Lösung auf 120—130° erhitzt zersetzt sich zu einem braunen Niederschlag, der rothen Farbstoff und Indigo enthält, Kaliumbisulfat bleibt in Lösung. Bei mehrstündigem Erhitzen von indoxylschwefelsaurem Kali mit Wasser und etwas Aetzkali auf 160° bis 170° wird keine Zersetzung bewirkt. Wird trocknes indoxylschwefelsaures Kali im Probirrohre rasch bis zum

*) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 14 S. 1744.

schwachen Glühen erhitzt, so entwickeln sich purpurrothe Dämpfe von Indigblau. Unreine Lösungen von indoxylschwefelsaurem Salz, wie sie die Harne von Menschen und Thieren, besonders Pflanzenfressern darstellen, geben Niederschläge von Indigblau bei Zusatz von starker Salzsäure, die etwas Chlor oder Eisenchlorid enthält. Ueber die Methode des Nachweises der Indoxylschwefelsäure im Harn siehe § 243. Die Bildung des Indigblau aus dem indoxylschwefelsauren Kalium oder dem abgespaltenen Indoxyl erfolgt nach den Gleichungen:



$$2(C_8H_6N, SO_4K) + O_2 = C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2(KHSO_4)$$



$$2(C_8H_6N, OH) + O_2 = C_{16}H_{10}N_2O_2 + 2(H_2O)$$

Skatolschwefelsäure C_9H_8N, SO_4H.

Von Brieger[1]) wurde aus dem Harne eines Hundes, dem reichlich Skatol beigebracht war, skatolschwefelsaures Kalium krystallisirt in sehr geringer Menge nach demselben Verfahren dargestellt, welches Baumann und Brieger zur Darstellung des indoxylschwefelsauren Salzes angewendet hatten. Dies Salz, aus dem Harne eines Diabetikers von Otto[2]) reichlicher erhalten, entwickelte trocken erhitzt rothe Dämpfe, der Rückstand gab mit Chlorbarium Bariumsulfat. Die wässerige Lösung des dargestellten Salzes gab mit concentrirter Salzsäure den am Ende von § 113 erwähnten rothen Farbstoff. Nach reichlicher Eingabe von Skatol erhielt Mester[3]) beim Hunde nur geringe Mengen skatolschwefelsaures Kalium im Harne. Dies Salz ist in Wasser löslich, in Alkohol schwer löslich.

Aromatische Säuren.

Benzoësäure $C_6H_5, COOH$.

120. Benzoësäure findet sich im Harn zahlreicher pflanzenfressender Thiere (Pferde, Wiederkäuer, Pachydermen, Nager), wenn derselbe einige Zeit gestanden hat; sie entsteht hier allmälig durch fermentative Spaltung aus Hippursäure. Der menschliche Harn enthält meist nur sehr geringe Mengen davon nach mehrtägigem Stehen. Nach sehr reichlichem inneren Gebrauch von Benzoësäure soll auch ein Theil derselben unverändert in den Harn übergehen.

Man stellt Benzoësäure entweder durch vorsichtige Sublimation aus Benzoëharz oder aus dem Harne nach Spaltung der Hippursäure dar. Sie bildet, besonders die sublimirte Säure, grosse langgestreckte dünne,

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 414.
2) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 33 S. 607.
3) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 130.

biegsame, farblose Tafeln von rechteckiger Form. Bei der Ausfällung der Benzoësäure aus Flüssigkeiten erhält man meist sehr schlecht begrenzte Krystalle. Sie schmelzen bei 121,25° (Reissert), und die geschmolzene Säure siedet bei 250°. Die Dämpfe der Säure reizen die Schleimhaut des Mundes und der Nase. Sie löst sich leicht in Alkohol, Petroläther, Essigäther, auch leicht in Aether, schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser. Ihre Lösungen reagiren stark sauer. Ihre Verbindungen mit Alkalien, Kalk und Magnesia sind leicht löslich in Wasser, ihre Silber-, Blei-, Quecksilberverbindungen darin fast unlöslich. Benzoësaures Ammoniak verliert an der Luft Ammoniak. Mit neutralem Eisenchlorid geben neutrale Lösungen benzoësaurer Salze voluminöse Niederschläge von benzoësaurem Eisenoxyd. Kochen mit concentrirter Salzsäure greift die Säure nicht an, Kochen mit concentrirter Salpetersäure verwandelt sie in Nitrobenzoësäure. Mit Aetzalkali oder Natronkalk stark erhitzt, zersetzt sie sich zu CO_2 und Benzol. Dampft man wässerige Lösungen von freier Benzoësäure siedend ab, so verflüchtigt sich viel Benzoësäure mit den Wasserdämpfen. Mit etwas starker Salpetersäure in einer Porzellanschale stark eingekocht, giebt Benzoësäure beim stärkeren Erhitzen Geruch nach Bittermandelöl oder Nitrobenzol.

Wegen der Verflüchtigung mit den Wasserdämpfen dürfen saure Flüssigkeiten, auch Harn, nicht abgedampft werden ohne Zusatz von Natriumcarbonat. Den syrupartigen Verdampfungsrückstand extrahirt man dann zur Entfernung von Fett zunächst mit Aether, giesst denselben dann ab und schüttelt abermals mit Aether oder Petroläther aus nach Zusatz genügender Menge von Schwefelsäure. Hat man mehrmals mit Aether ausgezogen, so wird die Benzoësäure ganz in die Aetherlösung übergegangen sein, wenn die Säure sich nicht in sehr grosser Menge in der Flüssigkeit befindet. In solchen Aetherauszügen können sich hauptsächlich neben Benzoësäure befinden: fette Säuren, Oxalsäure, Bernsteinsäure, Milchsäure, Hippursäure. Spült man den Rückstand des Aetherauszugs mit ein wenig kaltem Wasser ab, so wird Milchsäure, Essigsäure, Buttersäure entfernt; die letzteren beiden können auch durch Digeriren auf dem Wasserbade entfernt werden. Durch Lösen in viel Wasser kann man die Benzoësäure von Palmitin-, Stearin-, Oelsäure trennen. Von Hippursäure trennt man sie durch Petroläther, in dem Hippursäure unlöslich ist, von Oxalsäure und Bernsteinsäure durch Unlöslichkeit der Calciumverbindungen derselben in Alkohol (Bernsteinsäure) oder Wasser (Oxalsäure). Bei Verdunsten ihrer Lösung in Petroläther erhält man die Benzoësäure gut krystallisirt.

Zu ihrem Nachweis dient ausser der Krystallform und den Lös-

lichkeitsverhältnissen ihre Flüchtigkeit, das Verhalten beim Abdampfen mit Salpetersäure und Erhitzen des Rückstandes, die Bestimmung ihrer Sättigungscapacität in Barytsalz oder Silbersalz.

Hippursäure $C_9H_9NO_3 = NH(C_7H_5O).CH_2.COOH$.

121. Hippursäure ist fast constant reichlich im frischen Harne von Pferden, Wiederkäuern, Pachydermen und anderen pflanzenfressenden Säugethieren, in geringer Menge im Harne von Menschen, auch oft bei reiner Fleischkost oder lange dauernder Inanition vorhanden, ebenso im Hundeharne, fehlt aber bei völligem Ausschluss der Darmfäulniss[1]). Im Harne von Schildkröten und mehreren Insectenarten ist sie gleichfalls gefunden, nie dagegen im Vogelharne. Sie tritt im Harne von Menschen, Hunden u. s. w. reichlich auf nach Einführung von Benzoësäure oder Zimmtsäure, Toluol, Bittermandelöl, Chinasäure, Phenylpropionsäure u. s. w. Nach Genuss von Beerenfrüchten findet sie sich reichlicher im Harne. Ausserdem ist Hippursäure in geringer Menge im Schweisse nach Genuss von Benzoësäure gefunden, dagegen im Rindsblut vergeblich gesucht. Die ausgeschnittenen noch lebenden Nieren vom Hunde künstlich durchblutet, liefern bei Gehalt des Blutes an Benzoësäure und Glycocoll noch Hippursäure; bei Kaninchen können auch andere Organe diese Function erfüllen.

Man stellt sie aus Pferde- oder Rinderharn dar durch Abdampfen des Harns auf kleines Volumen und Zusatz von starker Salzsäure unter gutem Umrühren nach dem Erkalten. Die sich ausscheidende krystallisirte Säure spült man mit kaltem Wasser ab, löst dann in sehr schwacher Natronlauge, erhitzt zum Sieden, fügt unterchlorigsaures Natron in kleinen Portionen bis zur Entfärbung hinzu und scheidet nach dem Erkalten der Lösung die Säure durch Salzsäure wieder ab oder man leitet Chlor in die heisse wässerige Lösung der freien Hippursäure, bis die Flüssigkeit danach riecht, filtrirt schnell und krystallisirt die ausgeschiedene Säure unter Zusatz von Thierkohle mehrmals um[2]). Synthetisch stellt man Hippursäure dar durch allmäliges Eintragen von trocknem Glycocoll in erhitztes Benzoësäureanhydrid und Erwärmen im Oelbade, bis die Masse sich roth färbt[3]) oder noch besser nach der von Baum[4]) angewendeten Methode: Lösen von Glycocoll in wenig Wasser, Zusatz einiger Tropfen Natronlauge, Schütteln mit Benzoylchlorid, allmäliger Zusatz desselben im Ueberschuss, Zusatz von Natronlauge im

---

1) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 123.
2) Curtius, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 26 S. 145.
3) Curtius, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 17 S. 1662.
4) Baum, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 465.

starken Ueberschuss. Auf Zusatz von Salzsäure oder Schwefelsäure scheidet sich das Gemenge von Benzoësäure und Hippursäure aus. Die Benzoësäure wird mit Aether extrahirt. Die zurückbleibende Hippursäure aus Wasser umkrystallisirt.

Beim langsamen Erkalten der heiss gesättigten Lösung scheidet sich die Hippursäure meist in harten, zerbrechlichen, langen vierseitigen Prismen mit 2 oder 4 Pyramidenflächen am Ende ab, die dem rhombischen System zugehören. Sie lösen sich in 600 Thl. kaltem Wasser, viel reichlicher in heissem Wasser, leicht in Alkohol, wenig in Aether, besser in Essigäther, gar nicht in Petroläther, Benzol, Schwefelkohlenstoff. Trocken erhitzt schmilzt die Hippursäure bei 190,25 ⁰ und zerfällt beim weiteren Erhitzen unter Verkohlung zu Benzonitril, Blausäure, Benzoësäure. Sie verflüchtigt sich nicht mit den Wasserdämpfen, wird beim Kochen mit Wasser nicht verändert, aber beim Kochen mit starker Salzsäure, schneller beim Kochen mit starker Alkalilauge unter Wasseraufnahme zu Glycocoll und Benzoësäure gespalten. Dieselbe Spaltung vollzieht sich beim Stehen und Faulen hippursäurehaltigen Harns oder nach Zusatz von faulenden Massen zu verdünnten wässerigen Lösungen hippursaurer Salze.

Die hippursauren Salze sind meist in Wasser löslich, besonders leicht die Alkali- und alkalischen Erdsalze. Hippursaures Silber löst sich in heissem Wasser und scheidet sich beim Erkalten in weissen, seideglänzenden Nadeln ab. Hippursaures Eisenoxyd ist ein hellbrauner Niederschlag, der in Wasser sehr schwer, in Harn leichter löslich ist. Bei gewöhnlicher Temperatur geben neutrale hippursaure Salze mit Eisenchlorid einen Niederschlag, der auf 1 Atom Eisen 2 Atome Hippursäure enthält, beim Erhitzen der Flüssigkeit wird Hippursäure daraus frei und der Niederschlag enthält dann auf 1 Atom Eisen 1 Atom Hippursäure.

Zur Auffindung der Hippursäure im Harne ist die obige Darstellungsweise nur dann geeignet, wenn er viel davon enthält. Um geringe Mengen Hippursäure aufzusuchen, verdampft man die schwach alkalisch gemachte Lösung im Wasserbade zum dicken Syrup, extrahirt mit Alkohol, entfernt dann den Alkohol durch Abdampfen, mischt mit Salzsäure und extrahirt wiederholt mit Essigäther. Die abgegossenen Essigätherlösungen wäscht man mit kleinen Mengen Wasser oder Chlornatriumlösung, verdunstet den Essigäther und erschöpft den Rückstand mit frisch destillirtem Petroläther, welcher die Benzoësäure aufnimmt, die Hippursäure ungelöst lässt*). Krystallform, Schmelz-

*) Methode von Bunge und Schmiedeberg, Arch. f. exper. Path. und Pharm. Bd. 6 S. 233.

barkeit, Zersetzung unter Bildung von bittermandelölähnlich riechendem Benzonitril beim stärkern Erhitzen können zur Identificirung benutzt werden.

Phenylessigsäure $C_6H_5.CH_2.COOH$ und Phenylproprionsäure $C_6H_5.CH_2.CH_2.COOH$.

122. Diese beiden Säuren wurden von E. und H. Salkowski[1]) als Producte der Eiweissfäulniss erhalten. Bei sehr langer Dauer der Fäulniss kann die Phenylessigsäure überwiegen, bei sehr kurzer Dauer vielleicht fehlen. Beide Säuren oder nur die Phenylpropionsäure haben sich auch bei der Zersetzung von Eiweiss und Leim durch anaërobe Bacterien (Rauschbrand, bac. liquef. magnus)[2]) bei der Fäulniss des Gehirns[3]) und im Panseninhalt des Rindes bei Heufütterung[4]) gefunden.

Die Darstellung aus Fäulnissgemischen geschieht nach E. und H. Salkowski[1]) in folgender Weise: Die gefaulte Flüssigkeit wird bis auf $^1/_6$ ihres Volumens abdestillirt, der Rückstand weiter verdunstet, dann mit Alkohol ausgezogen, das filtrirte Alkoholextract verdunstet, der Rückstand in Wasser aufgenommen und mit Aether nach starkem Ansäuern mit Schwefelsäure ausgezogen. Nach Verdunsten des Aethers wird mit Natronlauge alkalisch gemacht, die dabei sich ausscheidenden Natronseifen der höheren Fettsäuren bringt man durch Erwärmen in Lösung und fällt nun die alkalische, durch Fett trübe Lösung heiss mit Chlorbarium. Die abfiltrirte klare Flüssigkeit wird eingedampft, mit Salzsäure angesäuert und mit Aether extrahirt. Den beim Verdunsten des Aethers zurückbleibenden öligen Rückstand (flüchtige Säuren, Oxysäuren, Skatolcarbonsäure, Bernsteinsäure) destillirt man im Wasserdampfstrom, fängt das Destillat in Natronlauge auf, engt die alkalische Lösung ein, säuert mit Salzsäure an und schüttelt mit Aether aus. Der beim Verdunsten des Aethers bleibende Rückstand wird destillirt und das über 260° Uebergehende, welches Phenylessigsäure und Phenylpropionsäure enthält, für sich aufgefangen. Zur Trennung der beiden Säuren von einander zerreibt man die ölige Flüssigkeit mit Zinkoxyd und Wasser, kocht den Brei mit grossen Mengen Wasser aus und filtrirt heiss. Der Rückstand enthält das phenylpropionsaure Zink, das Filtrat, abgesehen von kleinen Mengen einer anders schmelzenden

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 12 S. 107 u. 653. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 8 u. 491 u. Bd. 10 S. 150.
[2]) Nencki, Monatshefte f. Chem. Bd. 10 S. 506 u. 908.
[3]) Stöckly, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 24 S. 17.
[4]) Tappeiner, Zeitschr. f. Biol. Bd. 22 S. 236.

Substanz, welche sich beim Erkalten abscheidet, und von der man abfiltrirt, phenylessigsaures Zink, welches sich beim Eindampfen abscheidet. Durch Zersetzen der Zinksalze mit Salzsäure gewinnt man die freien Säuren.

Synthetisch erhält man Phenylessigsäure am Besten nach Mann[1]) und Städel[2]) durch Kochen von Benzylchlorid mit alkoholischem Cyankalium und Verseifen des Cyanids mit wenig verdünnter Schwefelsäure, Phenylpropionsäure aus Zimmtsäure durch Einwirkung von Natriumamalgam.

Die Phenylessigsäure krystallisirt in breiten Blättchen, schmilzt bei 76,5° und siedet bei 262°, die Phenylpropionsäure krystallisirt in langen feinen Nadeln, schmilzt bei 47—48° und siedet bei 280°. Beide lösen sich reichlich in heissem Wasser, leicht in Alkohol oder Aether, wenig in kaltem Wasser. Beide Säuren werden durch Chromsäure zu Benzoësäure oxydirt.

Phenylamidopropionsäure $C_6H_5 - CH_2 - CH(NH_2).COOH$.

123. wurde zuerst von Schulze und Barbieri[3]) in etiolirten Lupinenkeimlingen gefunden, wahrscheinlich ist sie auch in Keimlingen von Soja hispida u. a. enthalten;[4]) sie entsteht auch beim Kochen der Eiweisssubstanz der Kürbissamen und wahrscheinlich auch des Conglutin (aus Lupinen) und des Casein mit Salzsäure und Zinnchlorür, sowie beim Kochen des Conglutin mit Aetzbaryt.[5]).

Für die Darstellung aus Keimlingen[6]) und aus der mit Salzsäure zersetzten Eiweisssubstanz[5]) sind von Schulze die zweckmässigen Vorschriften gegeben. Synthetisch wurde diese Säure von Erlenmeyer und Lipp[7]) dargestellt. Sie krystallisirt aus concentrirten, noch warmen wässerigen Lösungen in kleinen glänzenden Blättchen ohne Krystallwasser, bei der Ausscheidung aus verdünnteren Lösungen bilden sich Nadeln mit Krystallwasser. Schmelzpunkt 275—280°. Die Krystalle lösen sich ziemlich schwer in kaltem, leicht in heissem Wasser, wenig in Weingeist. Die Lösung giebt mit Millon's Reagens keine Reaction. Wenn man die heisse wässerige Lösung der Säure mit Kupferoxydhydrat sättigt oder eine Kupferacetatlösung hinzufügt, so scheidet sich

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 14 S. 1645.
[2]) Ebendas. Bd. 19 S. 1949.
[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 14 S. 1785.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 405.
[5]) Ebendas. Bd. 9 S. 63.
[6]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 14 S. 1786.
[7]) Ebendas. Bd. 15 S. 1006.

sofort in blassblauen Krystallschuppen das Kupfersalz ab. Beim Erhitzen zersetzt sich die Säure in Phenylaethylamin und Phenyllactimid, beim Erhitzen mit Kaliumchlorat und Schwefelsäure bildet sich Benzoësäure; bei der Fäulniss entsteht aus ihr Phenylessigsäure,[1]) wahrscheinlich auch Phenylpropionsäure und da diese im Harn als Hippursäure ausgeschieden wird, ist die Phenylamidopropionsäure meistens als eine Quelle der Hippursäure im Harn anzusehen.

Diese aus Keimlingen und mit Hülfe von Salzsäure dargestellte Säure ist optisch aktiv und zwar ist $(\alpha)_D = -35{,}3^0$, die synthetisch dargestellte inaktiv; auch sonst unterscheiden sich beide Säuren in einigen Punkten.[2])

Phenacetursäure



$C_{10}H_{11}NO_3 = C_6H_5 . CH_2 . CO - HN\,CH_2 . COOH.$

124. ist von E. und H. Salkowski[3]) eine Säure genannt, welche nach Einführung von Phenylessigsäure in den Darmkanal im Harn erscheint, welche sich auch im normalen Pferdeharn und wahrscheinlich auch gelegentlich im normalen Menschenharn findet. Man erhält sie aus Pferdeharn nach Salkowski durch Eindampfen von 1 Liter auf 200 cbcm, Extrahiren des Rückstandes mit Alkohol, Verdunsten des Auszuges, Lösen in Wasser und Fällen mit starker Salzsäure. Nachdem die nach einiger Zeit ausgeschiedene Hippursäure abfiltrirt ist, wird die Lösung mit Aether geschüttelt, die Aetherlösung mit Sodalösung geschüttelt und darauf die letztere nach Ansäuern mit Salzsäure wieder mit Aether geschüttelt. Der beim Abdestilliren des Aethers bleibende Rückstand wird mit 50—80 ccm Wasser zum Sieden erhitzt. Die Lösung 24 Stunden sich selbst überlassen, dann abfiltrirt, das Filtrat auf ca. 15 ccm eingedampft. Beim Erkalten krystallisirt in der Regel Phenacetursäure ziemlich rein aus.

Synthetisch wurde sie erhalten durch Einwirkung von Glycocoll in alkalischer Lösung auf Phenylessigsäurechlorid.[4]) Sie krystallisirt aus heissem Wasser in dünnen dicht aufeinanderliegenden Blättchen, bei langsamer Abscheidung in derben anscheinend rechtwinkligen Prismen mit 2 Pyramidenflächen, aus Alkohol und Essigäther nach Hotter in würfelähnlichen Krystallen. Sie ist in Wasser schwer löslich, aber

---

[1]) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 282.

[2]) Schulze u. Naegeli, ebendas. Bd. 11 S. 204.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 12 S. 653.
Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 229.

[4]) Hotter, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 20 S. 81.
Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 38 S. 117.

leichter als Hippursäure, leicht löslich in Alkohol und Essigäther, sehr schwer löslich in Aether. Sie schmilzt bei 143°. Durch Kochen mit Salzsäure wird sie in Glykokoll und Phenylessigsäure gespalten.

Ornithursäure $C_{19} H_{20} N_2 O_4$*).

125. Vögel geben nach Einverleibung von Benzoësäure keine Ausscheidung von Hippursäure im Harne, sondern die von Jaffé entdeckte Ornithursäure. Die complicirte Darstellung vergl. in der Originalabhandlnng.

Die Säure krystallisirt ohne Krystallwasser in sehr kleinen, farblosen Nadeln, die sehr schwer löslich in heissem Wasser und in Aether so gut wie unlöslich sind. Sie lösen sich leichter in Essigäther, am leichtesten in heissem Alkohol, beim Erkalten sich grossentheils ausscheidend. Schmelzpunkt 182° (uncorrigirt). Beim stärkeren Erhitzen tritt Bittermandelgeruch und wolliges Sublimat, ähnlich dem Leucin auf. Die Lösungen röthen Lackmus. In nicht ganz reinem Zustande abgeschieden, bildet sie zunächst milchige Trübung, dann eine pflasterartige Masse, die allmälig krystallisirt; im reinen Zustande scheidet sie sich gleich krystallinisch aus. Ihre Verbindungen mit Alkalien und alkalischen Erden sind löslich und reagiren neutral.

Am aufsteigenden Kühler mit starker Salzsäure gekocht bis Lösung erfolgt, verwandelt sie sich zunächst in Benzoësäure und Monobenzoylornithin, beim weiteren Kochen in Ornithin und Benzoësäure. $C_{19} H_{20} N_2 O_4 + 2 H_2 O = 2 (C_7 H_6 O_2) + C_5 H_8 O_2 (NH_2)_2$.

Ornithursaurer Baryt ist in Alkohol oder Wasser leicht löslich, in Aether unlöslich, ornithursaures Calcium, aus der Ammoniakverbindung durch Calciumchlorid ausgefällt, ist sehr schwer löslich in Wasser, unlöslich in Alkohol oder Aether.

Das Monobenzoylornithin bildet farblose, zarte weiche Nadeln vom Schmelzpunkt 225—230°, ist leicht löslich in Wasser, unlöslich in Aether, fast unlöslich in Alkohol, giebt mit Mineralsäuren leicht lösliche Salze, aus concentrirter Salzlösung fällbar durch Neutralisation oder Zusatz von essigsaurem Alkali.

Das Ornithin $C_5 H_8 O_2 (NH_2)_2$, vielleicht Diamidovaleriansäure, bildet sich auch beim Kochen von Pyromucinornithursäure mit Barythydrat. Es ist noch wenig bekannt. Sein salpetersaures Salz $C_5 H_{12} N_2 O_2, HNO_3$ bildet breite farblose Krystallblätter, das salzsaure Salz farblose mikroskopische Blättchen. Mit Natronlauge erwärmt entwickelt es spermaähnlichen Geruch.

---

*) Jaffé, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 10 S. 1926, Bd. 11 S. 406.

Paroxyphenylessigsäure $C_6H_4\langle{}^{OH}_{C_2H_3O_2}$.

126. Paroxyphenylessigsäure ist von E. und H. Salkowski[1]) unter den Fäulnissproducten der Wolle und Eiweissstoffe aufgefunden, von H. Salkowski[2]) aus Phenylessigsäure dargestellt, von Baumann[3]) als Fäulnissproduct des Tyrosins erkannt und in geringer Menge aus dem normalen Harn von Menschen und Thieren, reichlicher aus pathologischen Harnen, bei Phosphorvergiftung und nach Fütterung von Tyrosin gewonnen[4]). Sie ist grösstentheils nicht an Schwefelsäure gebunden. Sie verschwindet bei Sistirung der Darmfäulniss nicht vollständig aus dem Harne[5]).

Die Säure krystallisirt aus der wässerigen Lösung in prismatischen, meist flachen, sehr spröden Nadeln, schmilzt bei 148° und verflüchtigt sich beim stärkeren Erhitzen zum Theil unzersetzt. Sie ist in kaltem Wasser ziemlich leicht löslich, weniger in salzsäurehaltigem, leicht in heissem Wasser, Alkohol, Aether, schwer in Benzol. Ihre wässerige Lösung giebt mit Eisenchlorid zunächst wenig intensive, grauviolette, dann schmutzig graugrüne Färbung. Kupfersulfat, Zink- oder Cadmiumsulfat geben in den wässerigen Lösungen der Ammoniakverbindung der Säure Niederschläge, ebenso Silbernitrat einen in kochendem Wasser löslichen, voluminösen Niederschlag des neutralen Silbersalzes. Durch Bleiacetat werden sehr verdünnte neutrale Lösungen nicht gefällt, concentrirte Lösungen geben krystallinischen, im Ueberschuss des Fällungsmittels löslichen Niederschlag; er scheidet sich dann allmälig wieder aus. Das Kalksalz durch Kochen der Säure mit Calciumcarbonat erhalten, krystallisirt aus concentrirter Lösung in tafelförmigen Krystallen $(C_8H_7O_3)_2Ca + 4(H_2O)$.

Hinsichtlich der Darstellung der Säure aus dem Harn vergl. folgenden Paragraphen. Aus Paramidophenylessigsäure erhält man sie durch Einwirkung von salpetriger Säure.

Hydroparacumarsäure $C_6H_4\langle{}^{OH}_{C_3H_5O_2}$.

127. Die Hydroparacumarsäure, früher aus der Paracumarsäure durch Natriumamalgam und aus der Paramidohydrozimmtsäure durch

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 12 S. 648.
[2]) Ebendas. Bd. 12 S. 1438.
[3]) Ebendas. Bd. 12 S. 1450. Bd. 13 S. 279.
Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 304.
[4]) Blendermann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 247.
[5]) Baumann, ebendas. Bd. 10 S. 125.

salpetrige Säure dargestellt, wurde von Baumann[1]) als nächstes Reductionsproduct des Tyrosin bei der Fäulniss und Bestandtheil des menschlichen Harns erkannt; sie findet sich unter den Fäulnissproducten der Eiweissstoffe neben der Paroxyphenylessigsäure in verschiedenen Quantitäten, da sie selbst durch Fäulniss bei Luftzutritt weiter zerfällt.

Durch Abdampfen gewonnen, bildet sie ein Oel, welches bald zur strahligen Krystallmasse erstarrt, aus wenig Wasser umkrystallisirt giebt sie farblose, wasserfreie, monoklinische, in Wasser, Alkohol, Aether leicht lösliche, bei 125° schmelzende Krystalle. Aus verdünnter wässeriger Lösung wird die Säure durch neutrales Bleiacetat nicht ausgefällt, wohl aber durch basisches Bleiacetat. In Wasser ist die Hydroparacumarsäure etwas leichter löslich, als die Paroxyphenylessigsäure. In Benzol sind beide schwer löslich, aber gleichfalls die Paroxyphenylessigsäure schwieriger, als die Hydroparacumarsäure. Beide Säuren geben die Plugge'sche Reaction der Rothfärbung bei Einwirkung von Millon's Reagens in der Wärme[2]).

Baumann[3]) empfiehlt folgendes Verfahren zur Gewinnung der Paroxyphenylessigsäure und der Hydroparacumarsäure: circa 50 Liter frischer normaler, menschlicher Harn werden zum dünnen Syrup verdunstet, mit Essigsäure stark angesäuert und mit Aether extrahirt. Die Aetherauszüge werden mit überschüssiger Sodalösung wiederholt geschüttelt; die vereinigten wässerigen alkalischen Lösungen werden von Neuem angesäuert und mit Aether ausgeschüttelt. Der Aetherauszug wird, nachdem der Aether abdestillirt ist, auf dem Wasserbade erwärmt bis die Essigsäure zum grössten Theile verjagt ist, in wenig Wasser gelöst und mit neutralem Bleiacetat versetzt, so lange ein Niederschlag entsteht. Aus dem Filtrat dieses Niederschlags werden durch basisches Bleiacetat die Oxysäuren gefällt; der ausgewaschene und abgepresste Niederschlag wird in Wasser zertheilt, mit SH_2 zerlegt und die Lösung von Neuem mit Aether ausgezogen. Nach dem Verdunsten des Aethers dieser Auszüge hinterbleibt ein stark saurer gelber Syrup, der meist nach einiger Zeit krystallinisch erstarrt. Tritt auch nach längerem Stehen keine Krystallisation ein, so ist es zweckmässig, den Syrup in Wasser zu lösen, mit kohlensaurem Baryt zu kochen und aus der Lösung der Barytsalze die Säuren von Neuem abzuscheiden. Die aus dem Menschenharn auf diese Weise dargestellten Oxysäuren

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 12 S. 1450 u. Bd. 13 S. 279. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 304.

[2]) Zeitschr. f. anal. Chem. 1872 S. 173. Nasse, Sitzungsber. d. naturf. Gesellsch. zu Halle 8. März 1879.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 191.

erstarren stets nach einigen Tagen krystallinisch; viel langsamer und schwieriger erfolgt die Krystallisation der Oxysäuren aus dem Hunde- und Pferdeharn. Die zum Krystallbrei erstarrte Masse wird zwischen Papier möglichst abgepresst und aus wenig Wasser umkrystallisirt. Die Paroxyphenylessigsäure krystallisirt dabei in langen durchsichtigen Prismen und wird durch einmaliges Umkrystallisiren aus viel Benzol völlig rein erhalten. Aus der eingedampften Mutterlauge wird durch Kochen mit einer zur völligen Lösung unzureichenden Menge Benzol die Hydroparacumarsäure aufgenommen, welche beim Erkalten noch gemengt mit Paroxyphenylessigsäure krystallisirt. Eine Methode der Trennung beider Säuren ist bis jetzt nicht bekannt.

Oxymandelsäure $C_6H_4 < {OH \atop CH(OH).COOH}$ und

Oxyhydroparacumarsäure $C_6H_4 < {OH \atop C_2H_3(OH).COOH} + \frac{1}{2}H_2O$.

128. Von Schultzen und Ries[1]) wurde in mehreren Fällen von acuter Leberatrophie im Harne neben Tyrosin eine Säure durch Ansäuern und Ausschütteln mit Aether in diesem gelöst erhalten, die durch basisches, nicht neutrales Bleiacetat fällbar, in Wasser schwerer löslich als Paroxyphenylessigsäure und Hydroparacumarsäure, einen Schmelzpunkt 162° und die obige Zusammensetzung ergab und Oxymandelsäure genannt ist.

Baumann[2]) erhielt aus Harn von Phosphorvergiftung eine in Benzol unlösliche Säure mit den aromatischen Oxysäuren zusammen, deren Trennung durch diese Unlöslichkeit leicht gelingt. Ihre Lösung färbte sich intensiv roth mit Millon's Reagens, sie bildete nadelförmige Krystalle von 167—168° Schmelzpunkt, welche bei raschem Erhitzen sich unter Abspaltung von Phenol zersetzten.

Blendermann[3]) gewann bei Fütterung von Kaninchen mit Tyrosin aus dem Aetherextract nach Abdampfen und Ansäuern des Harns neben den Oxysäuren eine als Tyrosinhydantoin bezeichnete Substanz (vergl. folg. Paragraphen) und eine Säure, die in halbzolllangen seidenglänzenden Nadeln mit Krystallwasser sich ausschied, sich schwer in Wasser löste und unter Braunfärbung bei 162—164° schmolz. Ihre Zusammensetzung ergab sich nach einer Analyse zu $C_9H_{10}O_4 + \frac{1}{2}H_2O$. Ueber Schwefelsäure verwittern die Krystalle und bei 105—110° verlieren sie

---

[1]) Schultzen u. Ries, Ueber acute Phosphorvergiftung und Leberatrophie. Berlin 1869.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 192.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 256.

das ganze Krystallwasser. Diese Säure giebt Rothfärbung mit Millon's Reagens, mit Eisenchlorid keine Färbung, mit Bromwasser Trübung und geballten amorphen Niederschlag. Man darf sie wohl als Oxyhydroparacumarsäure bezeichnen; sie stimmt mit den Angaben von Schultzen und Ries über die Oxymandelsäure überein, bis auf die Zusammensetzung, welche CH_2 mehr ergeben hat.

Oxyphenacetursäure wurde einmal von E. u. H. Salkowski [1]) aus Hundeharn nach Eingabe von Paroxyphenylessigsäure erhalten. Flache Krystallwarzen ziemlich leicht in heissem Wasser, schwer in Aether löslich. Schmelzpunkt 153°. Sie zerfällt mit Salzsäure gekocht in Glycocoll und Paroxyphenylessigsäure.



Tyrosin $C_6H_4<\begin{smallmatrix}OH\\CH_2\end{smallmatrix}.CH(NH_2).COOH$.

129. Das Tyrosin nach der synthetischen Darstellung von Erlenmeyer und Lipp [2]) identisch mit Paraphenyloxyalphaamidopropionsäure ist als constantes Product der Spaltung von Eiweissstoffen und Hornsubstanzen, nicht vom Leim, bei Einwirkung von Pankreasflüssigkeit, Fäulniss, Kochen mit Säuren oder Alkalien bekannt. Im normalen menschlichen oder Thierkörper fehlt das Tyrosin sowohl im Blute als den Organen, endlich im Harne, Speichel und andern Secreten, findet sich nur im Dünn- und Dickdarme bei der Verdauung von Eiweissstoffen, im Harne bei vorgeschrittener Phosphorvergiftung von Menschen, nie bei Hunden, ist aber aus der Leber bei dieser Vergiftung oft erhalten. Im Harne gefunden nach Eingabe von Tyrosinschwefelsäure wahrscheinlich an Schwefelsäure gebunden [3]). Bei acuter Leberatrophie reichlich im Harne. Fast immer ist Leucin sein Begleiter.

Seine Darstellung geschieht am Besten nach der von Hlasiwetz und Habermann angegebenen Methode (vergl. oben bei Leucin § 93).

Das gereinigte Tyrosin bildet farblose seidenglänzende feine mikroskopische Nadeln ohne Geruch und Geschmack, die sich beim Erhitzen unter Geruch nach verbranntem Horn zersetzen. Es ist schwer löslich in kaltem (1 Thl. in 2000—3000 Thl.), leichter löslich in heissem Wasser, unlöslich in absolutem Alkohol oder Aether. In Ammoniak, Alkalilauge, auch in kohlensauren Alkalilösungen löst es sich leicht, ebenso in verdünnten Mineralsäuren, schwer in Essigsäure. Die Kupferoxydverbindung durch Kochen von Tyrosin in Wasser mit Kupferoxydhydrat erhalten krystallisirt in blauen Prismen, zerfällt aber beim Kochen mit Wasser. Wird Tyrosin in ziemlich starker Salpetersäure gelöst, so scheidet sich nach einiger Zeit aus der Lösung ein gelbes

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 171.

[2]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 15 S. 1544.

[3]) Schotten, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 32.

Krystallpulver von salpetersaurem Nitrotyrosin aus. Beim Schmelzen mit Kalihydrat giebt es Paroxybenzoësäure. Bei der Fäulniss wird es zunächst zu Hydroparacumarsäure, dann zu Paroxyphenylessigsäure, dann zu Parakresol und CO_2 verwandelt, bei Zutritt von Sauerstoff bilden sich neben Parakresol wechselnde Mengen von Phenol. Dieselbe Umwandlung erleidet das Tyrosin, welches aus Eiweissstoffen bei ihrer Fäulniss im Darme entsteht, und besonders reichlich finden sich diese Umwandlungsproducte, wenn Tyrosin selbst in den Darm von Thieren eingeführt wird[1]).

Das synthetisch dargestellte, sowie das aus Conglutin durch Barytwasser gewonnene Tyrosin ist optisch unwirksam. Das aus Eiweissstoffen, Harn etc. dargestellte Tyrosin hat in 21procentiger Salzsäure gelöst $(\alpha)_D = -7{,}98^0$ und in 11,6procentiger Kalilauge gelöst $(\alpha)_D = -9{,}01^0$ (mit steigender Concentration der Lösung abnehmend) ergeben[2]). Tyrosin aus Conglutin durch Zersetzung mit Salzsäure gewonnen zeigte in 4procentiger Salzsäure gelöst $(\alpha)_D = -15{,}6^0$, in 21procentiger Salzsäure gelöst $(\alpha)_D = -8{,}48^0$[3]). Das aus Melasse gewonnene Tyrosin ergab in 21procentiger Salzsäure gelöst $(\alpha)_D = -8{,}07^0$ und das aus bleichen Schösslingen von Rüben gewonnene in 25procentiger Salzsäure gelöst $(\alpha)_D = +6{,}85^0$[4]).

Reactionen: 1. Eine Lösung von Tyrosin mit Millon's Reagens erhitzt, zeigt bald Rothfärbung, nach einiger Zeit bildet sich rother Niederschlag.

2. Mit einigen Tropfen concentrirter Schwefelsäure färbt sich eine nicht zu kleine Probe Tyrosin vorübergehend roth, löst sich und bildet beim Stehen und gelinden Erwärmen Tyrosinsulfonsäure, welche nach Zusatz von Wasser, vollständiger Sättigung mit Barium- oder Calciumcarbonat und Filtration eine Lösung giebt, die sich mit etwas Eisenchlorid violett färbt (Reaction von Piria).

3) Eine siedende wässerige Tyrosinlösung färbt sich mit 1pro-

---

[1]) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1 S. 60, Bd. 3 S. 250, Bd. 4 S. 304.
Baumann u. Herter, ebendas. Bd. 1 S. 244.
Weyl, ebendas. Bd. 3 S. 312.
Brieger, ebendas. Bd. 3 S. 134.
Baumann u. Brieger, ebendas. Bd. 3 S. 149.
Blendermann, ebendas. Bd. 6 S. 234.
Baumann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 12 S. 1450.

[2]) Mauthner, Wien. Acad. Sitzungsber. Bd. 85 II April 1882. oder Monatshefte f. Chemie Bd. 3 S. 343.

[3]) E. Schulze, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 63.

[4]) v. Lippmann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 17 S. 2838.

centiger Essigsäure dann tropfenweise mit Natriumnitrit versetzt schön roth (Wurster*).

4. Eine heisse wässerige Lösung färbt sich auf Zusatz von etwas trocknem Chinon rubinroth (Wurster*).

Zum Nachweise von Tyrosin im Harn oder anderen Flüssigkeiten wird nach Abscheidung der etwa vorhandenen Eiweissstoffe mit Essigsäure angesäuert, zum Kochen erhitzt und filtrirt, dann zuerst mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetat gefällt, so lange Niederschlag entsteht, filtrirt, durch SH_2 das Blei aus dem Filtrate entfernt und die filtrirte Flüssigkeit zum Syrup eingedampft. Beim Stehen scheidet sich Tyrosin allmälig krystallinisch ab, wenn es reichlich vorhanden ist. Giebt der Syrup mit Millon's Reagens beim Erwärmen keine Rothfärbung, so ist Tyrosin nicht vorhanden, tritt dagegen diese Reaction ein, so kann sie durch Reste nicht gefällter Oxysäuren oder Phenol- und Kresolschwefelsäuren bedingt sein. Für diesen Fall fügt man reichlich Salzsäure hinzu, verdünnt mit Wasser und erhält $^1/_2$ Stunde im Sieden zur Entfernung von Phenol und Kresol, lässt erkalten und extrahirt mehrmals mit Aether zur Entfernung der Oxysäuren, wiederholt dann mit der rückständigen wässerigen Lösung die Millon'sche Reaction. Bleibt jetzt diese Reaction aus, so ist kein Tyrosin vorhanden, tritt sie aber ein, so kann sie von Tyrosin herrühren, aber beweisend ist dies nicht. Man kann dann mit Bleioxydhydrat das Chlor entfernen, mit SH_2 aus dem Filtrat das gelöste Blei abscheiden, filtriren und zur Krystallisation eindampfen, sich abscheidende Krystallnadeln und Körner mit concentrirter Schwefelsäure erwärmen, nach $^1/_4$ Stunde in Wasser lösen, mit Bariumcarbonat neutralisiren, zum Kochen erhitzen, filtriren und mit wenigen Tropfen Eisenchlorid nach Piria prüfen. Gelingt die Krystallabscheidung nicht, so ist die Abwesenheit von Tyrosin noch nicht sicher zu stellen. Blendermann hat gefunden, dass selbst 0,2 gr Tyrosin zu 600 CC. Harn gefügt nicht wieder abzuscheiden waren, während 0,5 gr in $^1/_2$ bis 1 Liter Harn gelöst zum geringeren Theil in ausgebildeten Krystallen erhalten wurden. Versuche, durch Fäulniss in dem Syrup enthaltenes Tyrosin in Kresol und Phenol und Oxysäuren umzuwandeln und als solche nachzuweisen, gaben kein Resultat. Baumann sah die in der angegebenen Weise dargestellten Syrupe aus normalem Harn mit Millon's Reagens stets Rothfärbung geben; es ist nicht bekannt, welcher Stoff hier diese Reaction veranlasst.

Ein Hydantoin des Tyrosin $C_6H_4 \langle {OH \atop C_4H_5N_2O_2}$ stellte Blen-

*) Centralbl. f. Physiologie Bd. 1 S. 193.

dermannn[1]) aus dem Harne von Kaninchen dar, denen reichliche Quantitäten von Tyrosin beigebracht waren. Dasselbe ging mit den Oxysäuren in den Aetherauszug über, krystallisirt leicht aus, ist schwer löslich in Wasser, Alkohol, Aether, etwas leichter in heissem Wasser, noch leichter in Ammoniak. Aus ammoniakalischer Lösung wird es durch Salzsäure als weisses krystallinisches Pulver gefällt. Die Krystalle bräunen sich bei 270°, schmelzen unter Zersetzung bei 275—280°, geben starke Rothfärbung mit Millon's Reagens und zersetzen sich mit Barytwasser im zugeschmolzenen Rohr zu CO_2, NH_3 und Tyrosin.

Jaffé erhielt durch Einwirkung von cyansaurem Kali auf Tyrosin Tyrosinhydantoinsäure[2]).

Ein Derivat des Tyrosin von der Zusammensetzung $C_{21}H_{26}N_2O_8$ wurde von Danilewski[3]) durch Einwirkung von sehr wenig Pankreasferment auf Eiweissstoffe bei gewöhnlicher Temperatur und ziemlich neutraler Reaction innerhalb 2—5 Tagen, noch ehe Indol nachgewiesen werden konnte, erhalten. Nach dem Eindampfen der filtrirten Flüssigkeit und Zusatz von Alkohol schied sich dasselbe in Körnern und Krusten aus. Es wurde mit 30 procentigem Alkohol gewaschen, aus heissem verdünnten Alkohol oder heissem Wasser umkrystallisirt; es bildet kreidige Massen, die aus mikroskopischen Prismen oder tyrosinähnlichen Nadeln bestehen, giebt die Farbenreactionen des Tyrosin, soll aber ausserdem die Scherer'sche Inositreaction (§ 135) geben.

Gallussäure $C_6H_2 . (OH)_3 COOH$.

130. Ohne Zweifel aus Gerbsäure in der Nahrung herstammend, ist Gallussäure im Menschen- und Pferdeharn mehrmals aufgefunden[4]). Aus dem mit Essigsäure angesäuerten Harne wird sie mit den Oxysäuren zusammen von Aether aufgenommen und aus der sauren wässerigen Lösung des Aetherauszugrückstandes durch neutrales Bleiacetat gefällt. Aus diesem Niederschlage kann sie durch Säure und Schütteln mit Aether in diesen wieder aufgenommen und nach Verdunsten des Aetherauszuges in Wasser aufgelöst werden. Sie scheidet sich beim Verdunsten der wässerigen Lösung zuweilen in geringer Menge in Krystallen ab. Sie giebt in wässeriger Lösung mit Eisenoxydsalzen schwarzblaue Färbung, reducirt alkalische Silberlösung schon bei gewöhnlicher Temperatur und bräunt sich auf Zusatz von Alkalilauge.

Mit Cyankalium giebt die wässerige Gallussäurelösung eine schöne Rothfärbung, die beim ruhigen Stehen bald verschwindet, beim Umschütteln wieder erscheint (Sidney Young).[5]) Versetzt man eine

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 253.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 306.
[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 13 S. 2132.
[4]) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 193.
[5]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 16 S. 2691. (Refer.)

wässerige etwa 10procentige Lösung der Säure mit mässigem Ueberschuss von Phenylhydrazin und der gleichen Menge 50procentiger Essigsäure und erhitzt 1 Stunde im Wasserbade, so scheidet sich beim Erkalten Gallussäurephenylhydrazid als Prismen ab, die in Alkohol oder heissem Wasser ziemlich leicht löslich sind und bei 187° schmelzen. Mit Millon's Reagens giebt die Gallussäure einen rothen (lachsfarbenen) Niederschlag, der beim Kochen graubraun wird.[1])

Homogentisinsäure $C_6H_3(OH)_2 . CH_2 - COOH$.

131. Die Homogentisinsäure (Dioxyphenylessigsäure) wurde von Wolkow und Baumann[2]) aus dem Harn eines alten Mannes dargestellt, welcher die Eigenschaften zeigte, die Boedeker[3]) zuerst beschrieben und auf den Gehalt an einem leicht oxydirbarem, von ihm Alkapton genannten aber nicht rein dargestellten Körper zurückgeführt hat. Die Untersuchungen von Wolkow und Baumann haben ergeben, dass in diesem Falle die Eigenschaft der Bräunung des Harns bei Stehen an der Luft besonders auf Alkalizusatz und der Reduction von Kupferoxyd in alkalischer Lösung von der erhaltenen Homogentisinsäure verursacht ist. Sie gewannen diese Säure durch folgendes Verfahren: Der Harn wird 3 mal mit dem dreifachen Volumen Aether ausgeschüttelt, nach Ansäuern mit verdünnter Schwefelsäure (250 cbcm 12procentiger Schwefelsäure für die 24stündige Harnmenge), die abgegossenen Aetherauszüge abdestillirt, der zurückbleibende Syrup, der beim längeren Stehen zur Krystallmasse erstarrt, in 250 cbcm Wasser gelöst, fast zum Sieden erhitzt, 30 cbcm neutraler Bleiacetatlösung (1 Thl. : 5 Thl.) hinzugefügt, ein brauner harziger Niederschlag abfiltrirt und erkalten lassen. Allmälig scheidet sich das homogentisinsaure Blei in Nadeln und Prismen ab. Dasselbe ist in Wasser kaum löslich, wird fein zerrieben, unter Wasser durch Schwefelwasserstoff zersetzt, filtrirt und erst auf dem Wasserbade, dann im Vacuum zum Syrup verdunstet. Die sich abscheidenden Prismen der Säure werden erst mit Papier abgepresst und an der Luft getrocknet. Sie verlieren an der Luft 1 Mol. Krystallwasser, indem die Krystalle ganz zerfallen und undurchsichtig werden. Die wasserfreie Säure wird aus concentrirter alkoholischer Lösung durch siedendes Chloroform in durchsichtigen Blättchen erhalten. Schmelzpunkt 146,5 bis 147°. Ueber 100° getrocknet verliert sie unter Anhydridbildung 1 Mol. Wasser. In Chloroform, Benzol, Toluol ist die Säure fast

[1]) Huppert, Neubauer u. Vogel, Analyse des Harns, 9. Aufl. Wiesbaden 1890 S. 152.

[2]) Wolkow u. Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15. S. 228.

[3]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 117 S. 98.

unlöslich. Die wässerige Lösung färbt sich beim längeren Stehen an der Luft dunkel. Mit Ammoniak oder Natronlauge, auch schon mit Alkalicarbonat tritt Braun- bis Schwarzfärbung ein. Silbernitratlösung giebt in einigen Secunden Reduction von Silber, ammoniakalische Silberlösung giebt sofortige Reduction. Fehling'sche Lösung wird langsam in der Kälte, schnell beim Erwärmen reducirt. Wismuthsubnitrat wird kaum reducirt. Eisenchlorid giebt eine noch bei Gehalt von 1 Thl. Säure in 4000 Thl. Lösung erkennbare, rasch vorübergehende Blaufärbung. Beim Kochen mit concentrirter Eisenchloridlösung tritt Geruch nach Chinon auf. Millon's Reagens giebt Gelbfärbung und einen amorphen Niederschlag, der beim Erhitzen ziegelroth wird. Beim Erhitzen in weiter Probirröhre sublimirt die schmelzende Säure scheinbar unverändert, aber das Sublimat färbt sich allmälig schön blau. Beim Schmelzen mit Aetzkali bilden sich Hydrochinon und Gentisinsäure, (196—198° Schmelzpunkt). Das Lacton der Homogentisinsäure, welches beim Erhitzen der letzteren über 100° entsteht, krystallisirt in kurzen Prismen, ist schwer in kaltem, ziemlich leicht in heissem Wasser löslich und kann aus dieser Lösung umkrystallisirt werden. Schmelzpunkt des Lacton 191°. Dasselbe giebt mit Millon's Reagens Rothfärbung, seine wässerige Lösung reducirt neutrale Silberlösung nicht, auf Ammoniakzusatz alsbald. Lösungen der Homogentisinsäure von 1 pCt. Gehalt werden von Bleiacetatlösung sofort, 0,2procentige Lösungen nach einiger Zeit gefällt. Die Krystalle des homogentisinsauren Blei haben die Zusammensetzung $(C_8 H_7 O_4)_2 Pb + 3 H_2 O$; das Krystallwasser entweicht beim Liegen im Exsiccator oder beim Erhitzen. Dies Salz löst sich in 675 Thl. Wasser bei 20°, nicht in Alkohol oder Aether. Sein Schmelzpunkt ist 214—215°. Durch Einführung von Tyrosin in den Darm der Person, deren Harn Homogentisinsäure enthält, wird die Quantität der in 24 Stunden ausgeschiedenen Homogentisinsäure erheblich gesteigert.

Uroleucinsäure $C_9 H_{10} O_5$.

132. Uroleucinsäure vielleicht Trioxyphenylpropionsäure (Huppert) ist von Kirk*) aus dem Harn in einem Falle von Alkaptonurie nach folgendem Verfahren isolirt. Der Harn wird auf $^1/_{10}$ seines ursprünglichen Volumens eingedampft, zur Reinigung mit Aether geschüttelt, dann mit Salzsäure angesäuert und wieder mit Aether ausgeschüttelt. Beim Verdunsten des zweiten Aetherauszugs krystallisirt eine noch unreine Säure (Urrhodinsäure von Kirk genannt), welche in wenig war-

*) Brit. med. Journ. 1886 II. p. 1017 u. 1888 p. 232.
Journ. of anat. and physiol. T. 23 p. 69.

mem Wasser gelöst und mit soviel einer gesättigten Lösung von Bleiacetat versetzt wird, bis das von dem abgeschiedenen dunkeln Niederschlag getrennte Filtrat nur noch gelb gefärbt erscheint. In diesem Filtrat wird krystallisirtes Bleiacetat verrieben, wobei ein rahmartiger Niederschlag entsteht, welcher abfiltrirt, ausgewaschen und mit Schwefelwasserstoff zerlegt wird. Das Filtrat kann im Vacuum verdunstet oder mit Aether ausgeschüttelt und der Aether bei niederer Temperatur verdunstet werden. Die auf die eine oder andere Weise erhaltenen Krystalle werden aus Aether umkrystallisirt und stellen die Uroleucinsäure dar. Sie scheidet sich aus der Aetherlösung in Drusen oder Garben nadelförmiger Krystalle oder in einzelnen schräg abgeschnittenen Prismen ab, löst sich in ungefähr 5 Thl. Aether, in 6 Thl. Alkohol, 25 Thl. kalten und 20 Thl. heissen Wasser, ist in Chloroform und in Petroläther unlöslich. Schmilzt bei 130,3°. 2procentige und stärkere wässerige Lösungen werden durch Bleiacetat gefällt, verdünntere nicht durch neutrales wohl aber durch basisches Bleiacetat gefällt. Wässerige Lösungen färben sich beim Stehen allmälig, beim Eindampfen schnell dunkel, ebenso alkalisch gemachte Lösungen unter Sauerstoffaufnahme. Die Säure reducirt neutrale sowie ammoniakalische Silberlösung und Fehling'sche Lösung und zwar diese ungefähr 5mal so stark als Glucose. Wismuthnitrat in alkalischer Lösung wird nur reducirt, wenn die Lösung mindestens 0,5 pCt. davon enthält. Die wässerige Lösung der Uroleucinsäure färbt sich mit Eisenchlorid grün aber nur schnell vorübergehend. Gegen Millon's Reagens verhält sie sie sich wie Gallussäure, giebt zuerst einen rothen Niederschlag, der beim Kochen graubraun wird.[1])

Die Unterscheidung der Homogentisinsäure und Uroleucinsäure verlangt die Darstellung derselben, Prüfung der Schmelzpunkte, der angeführten Reactionen und der Zusammensetzung.



Kynurensäure $C_{10}H_7NO_3 + H_2O = OH . C_9H_5N . COOH + H_2O$.

133. Die Kynurensäure (Oxychinolincarbonsäure) wurde zuerst im Hundeharn gefunden. Sie tritt hier in geringer Quantität und nicht constant auf, bald neben Harnsäure, bald ohne dieselbe, wechselnd nach Art der Nahrung; bei Fleischnahrung am Reichlichsten und unbeeinflusst durch die Darmfäulniss[2]) oder doch nur in einem gewissen Grade von derselben abhängig.

Man fällt sie aus dem Harne entweder durch Salzsäure (4 CC. starker Salzsäure für je 100 CC. Harn) und sammelt die meist in kleinen

[1]) Huppert, Neubauer u. Vogel, Analyse des Harns, 9. Aufl. 1890 S. 155.
[2]) Baumann, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 131.

Krystallen neben Schwefel ausgeschiedene Säure nach 48 Stunden Stehen, oder man dampft erst auf kleines Volumen ein und fällt dann mit Salzsäure. Am Besten fällt man den Harn nach Hofmeister[1]) mit Phosphorwolframsäure (welche noch bei $^1/_{16000}$ Gehalt des Harnes an Kynurensäure Fällung giebt) unter Zusatz von $^1/_{10}$ vom Volumen des Harnes an Salzsäure und Auswaschen des Niederschlages bis zum Verschwinden der Chlorreaction mit verdünnter Schwefelsäure (5 Vol. Schwefelsäure auf 100 Vol. Wasser). Der abfiltrirte und abgepresste Niederschlag wird mit Barytwasser zum dünnen Brei angerührt, zum Kochen erhitzt, noch fester Aetzbaryt bis zur stark alkalischen Reaction eingetragen, dann filtrirt und gewaschen, der überschüssige Baryt mit CO_2 ausgefällt, dann auf kleines Volumen abgedampft und noch warm mit Salzsäure bis zur stark sauren Reaction versetzt, filtrirt, gewaschen, dann noch einige Male mit Aetzbaryt in das schwer lösliche Barytsalz verwandelt, mit Thierkohle entfärbt und wieder mit Säure abgeschieden.

Die reine Säure bildet glänzende weisse Nadeln, welche 1 Mol. Krystallwasser erst bei 150° verlieren. Sie löst sich nicht in verdünnten, aber wohl in concentrirten Mineralsäuren, löst sich ein Wenig in Aether, ziemlich gut in heissem Alkohol, beim Erkalten sich wieder ausscheidend. In Barytwasser gelöst giebt sie nach Ausfällung des überschüssigen Baryt mit CO_2, Auskochen des Niederschlages mit Wasser, Eindampfen und Stehenlassen zur Krystallisation in farblosen dreieckigen Blättchen krystallisirende Barytverbindung $(C_{10}H_6NO_3)_2Ba + 3(H_2O)$.

Mit HCl giebt Kynurensäure eine Verbindung $C_{10}H_7NO_3 . HCl$, welche durch Wasser zerlegt wird. Mit Phosphorwolframsäure giebt sie bei Gegenwart einer Mineralsäure einen Niederschlag in rhombischen Täfelchen (Hofmeister). Trägt man gepulverte Kynurensäure in eine heisse verdünnte Lösung von Kreatinin ein, so krystallisirt die Verbindung beim Erkalten der filtrirten Lösung in Büscheln von farblosen, dünnen Prismen; die Verbindung zerfällt schon beim Umkrystallisiren[2]). Bei Erwärmen von Kynurensäure mit Bromwasser auf dem Wasserbade entweicht CO_2 und es scheidet sich ein krystallinisches Pulver von der Zusammensetzung $C_9H_3Br_4NO$, in dem ein Atom Br sehr locker gebunden ist, aus.

Erhitzt man trockene Kynurensäure auf 265°, so bildet sich unter Entweichen von CO_2 eine braune Flüssigkeit, die nach dem Erkalten mit Wasser behandelt beim Stehen schöne Krystalle einer Base liefert, die bei 201° schmelzen; bei höherer Temperatur ist diese Base, von

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 67.
2) Jaffé, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 399.

Schultzen und Schmiedeberg[1]) Kynurin genannt C_9H_7NO, nicht flüchtig. Sie löst sich in Alkohol und giebt mit Platinchlorid gut krystallisirendes Doppelsalz.

Mit concentrirter Salzsäure auf 240° erhitzt liefert Kynurensäure salzsaures Kynurin; beim Erhitzen mit Zinkstaub im Wasserstoffstrom fast reines Chinolin. Bei der Oxydation mit Kaliumpermanganat bildet sich Oxalyl-o-Amidobenzoësäure[2]).

Wenn man Kynurensäure in einem Porzellanschälchen mit Salzsäure und chlorsaurem Kalium auf dem Wasserbade oder vorsichtig über freiem Feuer zur Trockne abdampft, so erhält man einen röthlichen Rückstand, der beim Anfeuchten mit Ammoniak sich zunächst braungrün, nach kurzer Zeit aber smaragdgrün färbt. Die Intensität der Färbung nimmt beim Stehen an der Luft erheblich zu. Beim Erwärmen geht die grüne oder blaugrüne Farbe in einen schmutzig violetten Ton über. Diese Reaction gelingt noch mit minimaler Quantität trockner Kynurensäure, selbst direct aus Harn gefällter noch unreiner Säure, aber um so schöner, je reiner sie ist[3]).

Urocaninsäure $C_{12}H_{12}N_4O_4$.

134. Als regelmässigen Bestandtheil im Harne eines Hundes in beträchtlichen Quantitäten fand Jaffé[4]) die Urocaninsäure, die in einigen Beziehungen sich der Kynurensäure eng anschliesst, sich wie eine Base und wie eine Säure verhält, gut krystallisirende Verbindungen giebt, besonders ein schwer lösliches salpetersaures Salz, sich aber später im Harne anderer Hunde nicht wiedergefunden hat. Sie krystallisirt im freien Zustande mit 4 Mol. H_2O, zersetzt sich bei 212—213°, indem sie schmilzt, stürmisch CO_2 und etwas Wasser entwickelt und ein gelbbraunes Oel zurücklässt, das beim Erkalten zu einer glasigen, durchscheinenden, grünlich fluorescirenden Masse erstarrt, die sich in Alkohol leicht, schwer in kaltem Wasser, leichter in heissem Wasser löst. Diese letztere noch nicht krystallisirt erhaltene Substanz, von Jaffé Urocanin $C_{11}H_{10}N_4O$ genannt, ist eine stark alkalisch reagirende Base, welche mit Platinchlorid ein Doppelsalz von der Zusammensetzung $C_{11}H_{10}N_4O$, $2HCl$, $PtCl_4$ gab. Die Urocaninsäure zerlegt sich also beim Erhitzen in CO_2, Wasser und Urocanin $C_{12}H_{12}N_4O_4 = CO_2 + H_2O + C_{11}H_{10}N_4O$.

1) Ann. Chem. Pharm. Bd. 164 S. 155.
2) Kretschy, Monatshefte f. Chem. Bd. 2 S. 84 u. Bd. 5 S. 16.
3) Jaffé, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 399.
4) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 8 S. 811.



Inosit $C_6H_{12}O_6 = CH, OH \left\langle \begin{matrix} CH, OH - CH, OH \\ CH, OH - CH, OH \end{matrix} \right\rangle CH, OH.$ (?)

135. Der Inosit, in verschiedenen Pflanzen, im frischen Traubensafte und im Weine, besonders in grünen Bohnen enthalten und daraus leicht in grösserer Quantität darzustellen, findet sich in geringer Menge im Herzfleische, auch in anderen Muskeln, in der Leber, Milz, Lunge, Nieren, Nebennieren, Gehirn. Im Harne ist Inosit besonders bei Albuminurie, bei Diabetes mellitus gefunden; Spuren von Inosit finden sich nicht nur bei Polyurie, sondern in jedem normalen Harne. In den Muskeln wurde er besonders bei Säufern gefunden, auch die Flüssigkeit von Echinococcen in der Leber enthält etwas Inosit.

Der Inosit bildet, wenn er rein ist, farblose grosse rhomboëdrische, an trockner Luft schnell verwitternde Krystalle des monoklinoëdrischen Systems, im unreinen Zustande und in geringer Menge zeigt er sich in zarten dendritischen Vegetationen. Getrocknet schmilzt er erst bei 225° und erstarrt beim Erkalten zu feinen Nadeln. Er löst sich leicht in Wasser (1 : 75), ist dagegen in starkem Alkohol oder Aether unlöslich. Die wässerige Lösung besitzt süssen Geschmack, giebt mit Hefe versetzt keine alkoholische Gährung, bewirkt keine Circumpolarisation und löst Kupferoxydhydrat, ohne es beim Kochen zu reduciren. Durch Kochen mit Salzsäure oder verdünnter Schwefelsäure oder Alkalien wird Inosit nicht verändert.

Mit Phenylhydrazin gibt er keine Verbindung; beim Erhitzen von entwässertem Inosit mit Acetylchlorid am Rückflusskühler auf 50° erhält man Hexaacetylinosit, bei 200° sublimirende und bei 212° schmelzende Krystalle; ferner ist Hexabenzoylinosit[1]), bei 258° schmelzende Nadeln, dargestellt; mit concentrirter Salpetersäure digerirt geht er in Inosithexanitrat über, welches durch Schwefelsäure gefällt wird, in Alkohol löslich ist; dasselbe reducirt Silberoxyd (Inosit nicht), auch Kupferoxydhydrat zu Oxydul. Mit faulenden Eiweissstoffen in wässeriger Lösung zerfällt der Inosit unter Bildung von Milchsäure und Buttersäure und zwar ist diese Milchsäure gewöhnliche Gährungsmilchsäure[2]). Durch basisch essigsaures Bleioxyd wird der Inosit aus der wässerigen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur nach einiger Zeit, beim Kochen sogleich als Gallert gefällt. Mit Jodwasserstoff auf 170° erhitzt, bildet er etwas Benzol und Trijodphenol.

Inosit-Probe von Scherer: Dampft man eine Probe Inosit mit Salpetersäure auf Platinblech fast zur Trockne ein, versetzt den

---

1) Maquenne, Compt. rend. T. 104 p. 225, 297 u. 1719.
Fick, Pharmac. Zeitschr. f. Russland Bd. 26.

2) Vohl, Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 9 S. 984.

Rückstand mit Ammoniak und einem Tropfen Chlorcalciumlösung und dampft nun vorsichtig zur Trockne ab, so erhält man eine schön rosarothe Färbung (Rhodizonsäure). Diese Probe gelingt aber nur dann, wenn der Inosit bereits ziemlich rein dargestellt ist.

Seidel'sche Probe.[1]) Die Ausführung ist dieselbe, man verwendet nur statt des Chlorcalcium wenige Tropfen einer Strontiumacetatlösung, worauf sich eine Grünfärbung mit violettem Niederschlag zeigt. Diese Reaction gelingt noch mit 0,3 mgr Inosit.

Zur Darstellung des Inosit aus Gewebsflüssigkeiten, besonders Muskeln, kann man sich entweder der Fällung mit Bleiessig bedienen oder den Vorschriften Boedeker's[2]) folgen: Man versetzt die Flüssigkeiten (wässerige Extracte der Muskeln oder Drüsen, Lunge u. s. w.) nach Coaguliren des Albumins, Ausfällen der Phosphorsäure durch Barythydrat, Eindampfen und Auskrystallisiren des Kreatin kochend mit dem ein- bis vierfachen Volumen Alkohol; entsteht hierdurch ein starker, am Glase haftender Niederschlag, so giesst man nur die heisse alkoholische Lösung ab; entsteht aber ein flockiger, nicht klebriger Niederschlag, so filtrirt man durch zuvor erhitzten Trichter die heisse Lösung ab und lässt erkalten. Wenn sich nach 24 Stunden Gruppen von Inositkrystallen abgesetzt haben, so giesst man die Lösung nochmal durch's Filter ab, spült die Krystalle mit wenig kaltem Alkohol ab (und es ist dann rathsam, den auf Zusatz von heissem Alkohol erhaltenen Niederschlag nochmals in wenig kochendem Wasser zu lösen und wiederum mit dem drei- bis vierfachen Volumen Alkohol zu fällen und wieder abzugiessen, um keinen Verlust an Inosit zu erleiden). Haben sich aber keine Inositkrystalle abgesetzt, so versetzt man das klare alkoholische Filtrat mit Aether nach und nach unter Umschütteln, bis beim Umschütteln etwas milchige Trübung bleibt und lässt dann 24 Stunden stehen. Hat man hinreichend Aether zugesetzt (der überschüssige Aether schadet nicht, macht nur kleinere Krystalle), so ist aller Inosit in Form schön perlmutterglänzender Bättchen abgeschieden.

Scyllit[3]) ist ein in Wasser schwer löslicher, in Alkohol unlöslicher, ohne Krystallwasser krystallisirender, süss schmeckender Körper genannt, der in Leber, Kiemen, Milz, und besonders in den Nieren von Rochen und Haifischen von Staedeler und Frerichs gefunden ist. Seine Zusammensetzung ist unbekannt, die Scherer'sche Inositreaction giebt er nicht, wird aber durch basisch essigsaures Bleioxyd kleisterartig gefällt, durch Kochen mit Natronlauge nicht verändert, ebensowenig durch Salpetersäure; Kupferoxyd reducirt er nicht.

---

[1]) Dissertation. Dorpat 1884.

[2]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 117 S. 118.

[3]) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 73 S. 48.

Gepaarte Glucuronsäuren.

136. In Folge der Einverleibung einer nicht geringen Anzahl von aromatischen Stoffen, einiger organischer Chlorverbindungen und einiger weniger fetter Alkohole, ferner in Folge der Entstehung gewisser aromatischer Körper durch Fäulniss im Darmkanal (Phenole, Indol etc.) können Verbindungen im Harne auftreten, welche bei der Behandlung mit verdünnten Säuren gespalten werden unter Wasseraufnahme in Glucuronsäure und einen Paarling, der in allen Fällen eine Hydroxylverbindung ist. Von solchen gepaarten Glucuronsäuren sind im krystallisirten Zustande isolirt die Euxanthinsäure $C_{19}H_{16}O_{10}$, welche beim Kochen mit verdünnter Säure in Euxanthon und Glucuronsäure zerfällt, die Camphoglucuronsäure (eine amorphe und eine krystallisirte), welche in Campherol und Glucuronsäure zerlegt wird,[1]), die Urochloralsäure, welche mit Säuren gekocht Trichloräthylalkohol und Glucuronsäure liefert[2]), die Phenylglucuronsäure, welche im Harn nach Eingabe von Phenol neben Phenylschwefelsäure erscheint[3]), die Thymolglucuronsäure, welche im Harn der Menschen nach Eingabe von Thymol neben Thymolschwefelsäure auftritt und bei Behandlung des Harns mit Salzsäure und unterchlorigsaurem Natrium Dichlorthymolglucuronsäure in Krystallen ausscheidet[4]) und mehrere andere.

Alle bis jetzt beobachteten gepaarten Glucuronsäuren (von denen theilweise nur die Paarlinge gut bekannt sind) haben linksseitige Circumpolarisation, die aus ihnen dargestellte Glucuronsäure, soweit die Darstellung geglückt ist, rechtsseitige Drehung ergeben. Bezüglich der letzteren Säure siehe § 61. Es ist bis jetzt das Auftreten gepaarter Glucuronsäure im Urin nur als die Folge der Einbringung fremder, der gewöhnlichen Nahrung nicht zugehöriger Stoffe anzusehen.

Furfurol- und Thiophen-Derivate.

Werden Hunden oder Kaninchen Furfurol oder Brenzschleimsäure in den Darmcanal eingeführt, so erscheinen im Harne dieser Thiere Brenzschleimsäure und zwei der Hippursäure analoge Verbindungen mit Glycocoll, denen von Jaffé und Cohn[5]), welche dies Verhalten zuerst beobachtet und untersucht haben, die Bezeichnungen Pyromukursäure $C_7H_7NO_4$ und Furfuracrylursäure $C_9H_9NO_4$ gegeben sind. Die letztere erscheint in geringer Menge. Durch Kochen mit Barytwasser

[1]) Schmiedeberg u. Meyer, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3 S. 422.
[2]) v. Mering, ebendas. Bd. 6 S. 480.
[3]) Külz, Zeitschr. f. Biolog. Bd. 27 S. 247.
[4]) Külz, a. a. O. u. Blum, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 514.
[5]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 20 S. 2311 u. Bd. 21 S. 3461. Jaffé u. Levy, ebendas. Bd. 21 S. 3458.

wird die erstere in Brenzschleimsäure und Glycocoll, die letztere in Furfuracrylsäure und Glycocoll gespalten. Auch ist aus dem Harne von Hunden, welche Furfurol erhalten hatten, von Jaffé und Cohn eine krystallisirte Harnstoffverbindung der Pyromukursäure dargestellt. Nach Einbringen von Furfurol in den Darmkanal von Hühnern ist Pyromucinornithursäure $C_{15} H_{16} N_2 O_6$ aus den Excrementen derselben dargestellt und ihre Spaltung mit Barytwasser in Brenzschleimsäure und Ornithin ausgeführt.

Nach Eingabe von α-Thiophensäure bei Kaninchen wurden aus dem Harne eine durch Kochen mit Barytwasser in Glycocoll und α-Thiophensäure spaltbare α-Thiophenursäure $C_7 H_7 NSO_3$ und mehrere krystallisirte Salze derselben gewonnen.

Mercaptursäure.

Nach Einführung von Brombenzol (oder Chlorbenzol) in den Darm von Hunden, tritt im Harne eine durch Säure schon bei niederer Temperatur zerlegbare Verbindung von Glucuronsäure mit einer nach der Abspaltung auskrystallisirenden Säure, welche von Baumann und Preusse*) Bromphenylmercaptursäure $C_{11} H_{12} Br S N O_3$ genannt ist, auf. Diese letztere Säure wird beim Kochen mit Säuren in Essigsäure und Bromphenylcysteïn, beim Kochen mit Alkalien in Essigsäure, Ammoniak, Bromphenylmercaptan und Brenztraubensäure resp. die Zersetzungsproducte der letzteren, Oxalsäure und Uvitinsäure, zerspalten.

Cholesterin $C_{26} H_{44} O$.

137. In geringer Menge findet sich das Cholesterin gelöst im Blute und fast allen anderen Flüssigkeiten des menschlichen Körpers und zeigt ebenso bei Thieren sehr weite Verbreitung. Wie es der Name dieses Stoffes ausdrückt, ist es zuerst in der Galle gefunden und zwar in der Galle eines jeden Thieres, bei welchem darauf untersucht ist. Bei Weitem die meisten Gallensteine von Menschen bestehen der Hauptmasse nach, ein Theil derselben sogar ganz aus krystallisirtem Cholesterin und es findet sich dieser Körper krystallinisch abgeschieden in vielen alten Transsudaten und Cystenflüssigkeiten, besonders in Hydrocele, Ovarialcysten, Atherombälgen der Haut, den sog. atheromatösen Arteriengeschwüren, Eiter, Tuberkelmassen, Strumacysteninhalt. Reichlich ist es in der Marksubstanz des Gehirns und aller Nerven enthalten. Im Harne wird es höchst selten und in dann sehr geringer Menge, dagegen als ein normaler Bestandtheil in den Fäces von Menschen und Thieren gefunden.

---

*) Baumann u. Preusse, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 309. Baumann. ebendas. Bd. 8 S. 190.

Man stellt das Cholesterin fast ausschliesslich aus Gallensteinen dar, welche man gepulvert mit siedendem Alkohol oder Alkohol und Aether auszieht; das aus der Lösung beim Erkalten oder Verdunsten des Aethers krystallinisch abgeschiedene Cholesterin wird noch zur Reinigung mit alkoholischer Kalilösung gekocht, durch Erkaltenlassen wieder abgeschieden, mit kaltem Alkohol und mit Wasser gewaschen, endlich in Alkohol und Aether gelöst und die Lösung zur Krystallisation offen hingestellt.

Das reine Cholesterin krystallisirt aus der Lösung in wasserfreiem Aether, Chloroform oder Benzol in wasserfreien, feinen seidenglänzenden Nadeln, aus kochendem Alkohol beim Erkalten in wasserhaltigen grossen rhombischen Tafeln, die besonders aus einer Mischung von Alkohol und Aether beim Verdunsten des letzteren sehr gross und schön werden. In trockner Luft werden diese Krystalle durch Verwittern schnell undurchsichtig; ihre Zusammensetzung ist $C_{26}H_{44}O + H_2O$ (nach Latschinoff $C_{25}H_{42}O + H_2O$). Diese rhombischen Tafeln haben entweder 76° 30′ oder 87° 30′ als spitze Kantenwinkel. Während der Krystallisation zeigt sich oft Abrundung des stumpfen und Zuspitzung des spitzen Winkels, ja zuerst scheinen oft nur Nadeln zu enstehen, dann ungleichseitige Wetzsteinformen und diese gehen endlich in die obigen rhombischen Tafeln über. Die Krystalle sind oft so dünn, dass ihre Contouren nur bei sehr engem Diaphragma unter dem Mikroskope sichtbar werden.

Das trockne Cholesterin schmilzt bei 145° und destillirt im luftleeren Raume bei 360°. Es ist völlig unlöslich in Wasser, verdünnten Säuren und selbst concentrirten Alkalilaugen; auch in kaltem Alkohol ist es nicht löslich, dagegen löst es sich reichlich in siedendem Alkohol, in Aether, Chloroform, Benzol, flüchtigen und fetten Oelen, weniger löslich ist es in den Lösungen gallensaurer (cholalsaurer, glyco- und taurocholsaurer) Salze, am wenigsten in den wässerigen Lösungen der Seifen. Die Lösungen des Cholesterins drehen die Polarisationsebene nach links und zwar ist die spec. Drehung in Aether gelöst nach Lindenmeyer $(\alpha)_D = -31{,}59$, nach Hesse*) $(\alpha)_D = -31{,}12$, in Chloroform gelöst nach Hesse mit der Concentration zunehmend $(\alpha)_D = -(36{,}61 + 0.249p)$ bei 15°.

Kochen mit Aetzkalilauge lässt es unverändert. In concentrirter Schwefelsäure wird es zu einer schön rothen Masse umgewandelt, die beim Zusatz von Wasser grün und gelb wird; es bilden sich durch die Einwirkung der concentrirten Schwefelsäure unter Abgabe von Wasser mehrere isomere Kohlenwasserstoffe (Cholesteriline), ebenso wirkt glasige

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 192 S. 178.

Phosphorsäure (Bildung der Cholesterone). Mit chromsaurem Kali und Schwefelsäure erhitzt giebt Cholesterin eine Säure von der Zusammensetzung $C_{24}H_{40}O_6$, die nicht krystallisirt und aus ammoniakalischer Lösung mit Chlorcalcium, Chlorbarium, salpetersaurem Silber voluminöse Niederschläge giebt von der Formel $C_{24}H_{38}R_2O_6$ [1]).

Reactionen. Durch concentrirte Schwefelsäure und ein wenig Jod wird krystallisirtes Cholesterin bald violett, blau, grün und roth gefärbt. Dieses Verhalten bietet ein gutes mikroskopisches Erkennungsmittel für Cholesterinkrystalle.

Löst man eine Probe Cholesterin in etwas Chloroform im Probirglas und fügt ein dem Chloroformvolumen gleiches Volumen concentrirter Schwefelsäure hinzu, so färbt sich die Chloroformlösung schnell blutroth, dann kirschroth und purpurfarbig. Giesst man die Lösung in eine Schale aus, so färbt sie sich bald blau, grün, endlich gelb. Die Schwefelsäure unter der Chloroformlösung zeigt eine deutlich grüne Fluorescenz, verdünnt man sie mit Eisessig, so wird die Lösung erst rosa- bis purpurroth und behält die grüne Fluorescenz [2]).

Cholesterinkrystalle werden in wenig Chloroform im trocknen Probirrohr gelöst, zwei bis drei Tropfen Essigsäureanhydrid, dann vorsichtig tropfenweise concentrirte Schwefelsäure hinzugefügt. Es tritt zunächst eine rosenrothe, darauf schön blaue Färbung ein, die dann später in Grün übergeht; handelt es sich um ganz geringe Menge von Cholesterin, so tritt nach einigen Minuten direct eine Grünfärbung auf [3]).

Eine Probe reines und völlig getrocknetes Cholesterin in einem trocknen Probirglas mit 2 bis 3 Tropfen Propionsäure-Anhydrid versetzt, wird über kleiner Flamme des Bunsenbrenners geschmolzen. Beim Abkühlen wird die geschmolzene Verbindung zuerst violett, dann allmälig blau, grün, grau, orange, carminroth, kupferroth. Die Farbenerscheinung ist sehr deutlich zu beobachten, wenn man einige Körnchen dieser Masse an einem Glasstab bis zum Schmelzen erhitzt, dann den Glasstab während des Abkühlens vor einem dunkeln Hintergrunde betrachtet. [4])

Dampft man auf einer Porzellanplatte (Tiegeldeckel) über freier Flamme eine sehr kleine Probe Cholesterin mit einem Tropfen concentrirter Salpetersäure ab, so erhält man einen gelben Fleck, der noch warm mit Ammoniak übergossen schön roth wird. Diese Probe gelingt gut, wenn man vorsichtig und nicht zu stark erhitzt.

---

[1]) Loebisch, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1872 S. 510.

[2]) Salkowski, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 6 S. 207.

[3]) Vergl. Liebermann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 18 S. 1804. H. Burchard, Dissert. Rostock 1889.

[4]) Obermüller, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15 S. 37.

Eine Probe Cholesterin mit einer eisenchloridhaltigen Salzsäure auf einem Porzellantiegeldeckel über freier Flamme verdunstet, giebt eine erst röthliche, dann violette, mehr und mehr ins Bläuliche ziehende Färbung der ungelöst bleibenden Partikelchen. Diese Probe ist nur zu gebrauchen, wenn das Cholesterin bereits ziemlich rein ist, da man sonst keine deutliche Färbung in der angegebenen Weise erhält.

Das Cholesterin mit organischen Säuren andauernd erhitzt, verbindet sich damit zu Aetherverbindungen, die schwer wieder zu trennen sind. In Eisessig löst es sich beim Erwärmen sehr reichlich und scheidet sich beim Erkalten in nadelförmigen Krystallen aus, die aus Cholesterin und Essigsäure $C_{25}H_{42}O$, $C_2H_4O_2$ bestehen. Durch Zusatz von Alkohol oder Wasser erhält man aus diesen Krystallen wieder Essigsäure, und Cholesterin scheidet sich in den rhombischen Tafeln aus.

Durch Schütteln mit Aether lässt sich das Cholesterin festen Stoffen, die fein pulverisirt sind, sowie Flüssigkeiten gut entziehen. Nach Abgiessen und Verdunsten des Aethers kocht man den Rückstand mit alkoholischer Kalilauge, entfernt dann den grössten Theil des Alkohol durch Verdunsten, bringt die mit Wasser versetzte rückständige Flüssigkeit in eine Flasche, schüttelt wieder mit Aether, welcher nach dem Abgiessen und Verdunsten das Cholesterin noch mit ein wenig Seife verunreinigt zurücklässt. Man löst es zur Reinigung in etwas verdünnten Alkohol unter Erhitzen auf und fügt ein wenig starke Salzsäure hinzu. Es scheidet sich dann in glänzenden Tafeln beim Erkalten aus. Zur Erkennung der Cholesterintafeln unter dem Mikroskop dienen die Löslichkeitsverhältnisse und das Verhalten gegen Schwefelsäure und Jod.

Isocholesterin $C_{26}H_{44}O$.

138. Neben gewöhnlichem Cholesterin wurde von E. Schulze*) im Wollfett der Schafe Isocholesterin als ein wohl charakterisirter vom Cholesterin verschiedener Körper entdeckt und untersucht. Das Isocholesterin ist darin zum Theil in Aetherverbindung mit Stearinsäure und Oelsäure vorhanden, wird im freien Zustande aus Aether und Aceton in feinen durchsichtigen Nadeln krystallisirt, aus heissem Alkohol beim Erkalten in gallertigen Massen und, wenn die Lösung verdünnt ist, in weissen Flocken abgeschieden. Eine concentrirte heisse Alkohollösung erstarrt beim Erkalten zur durchscheinenden Gallert. Schmelzpunkt 138—138,5°. Das Isocholesterin besitzt rechtsseitige Circumpolarisation $(\alpha)_D = +59{,}1^\circ$. Es giebt mit Chloroform und concentrirter Schwefelsäure nicht die Farbenreactionen des gewöhnlichen Cholesterins.

*) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 6 S. 251.
Schulze u. Barbieri, Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 25 S. 159.

Zur Trennung des Cholesterins und Isocholesterins wird die Mischung mit Benzoësäure im zugeschmolzenen Rohre auf 200° erhitzt und längere Zeit erhalten. Die entstandenen Benzoësäureverbindungen sind sehr verschieden. Der benzoësaure Cholesterinäther schmilzt bei 125—130° und bildet glänzende dicke, tafelförmige Krystalle, der benzoësaure Isocholesterinäther schmilzt bei 190—191° und krystallisirt in feinen glänzenden Nadeln. Durch Kochen mit alkoholischer Kalilauge wird die Benzoësäure abgetrennt.

In Pflanzen sind noch drei andere Cholesterine unterschieden nämlich Phytosterin[1]), Schmelzpunkt 132—133° und spec. Drehung $(\alpha)_D = -34{,}2^0$, Paracholesterin[2]), Schmelzpunkt 134—134,5°, $(\alpha)_D = -27{,}24$ bis $-28{,}88^0$ und Caulosterin[3]), Schmelzpunkt 158—159°, $(\alpha)_D = -36{,}4^0$. Ob den Cholesterinen die Zusammensetzung $C_{25}H_{42}O$ oder $C_{26}H_{44}O$ zukommt, ist noch nicht genügend festgestellt.

Cholalsäure $C_{24}H_{40}O_5$.

139. Geringe Mengen von Cholalsäure finden sich im Dünndarm, reichlicher in Dickdarm und Excrementen von Rindern, Hunden und wohl auch Menschen. Aus Glycocholsäure und Taurocholsäure wird sie durch anhaltendes Kochen mit Aetzalkalien gebildet. Strecker[4]) benutzte hierzu heiss gesättigte Lösung von Aetzbaryt. Sehr bequem zur Gewinnung grösserer Quantitäten aus Rindsgalle ist das von Mylius[5]) angegebene Verfahren. Nach demselben wird Rindsgalle mit dem 5. Theil ihres Gewichtes von 30procentiger Natronlauge 24 Stunden lang unter Erneuerung des verdampfenden Wassers gekocht, die Flüssigkeit dann mit CO_2 gesättigt und bis fast zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit starkem Alkohol ausgezogen. Das cholalsaure Natron geht in Lösung über, aber zugleich stearinsaures und choleïnsaures Natron. Die alkoholische Lösung wird soweit mit Wasser verdünnt, dass höchstens noch 20 pCt. Alkohol sich in der Lösung befinden, dann mit verdünnter Chlorbariumlösung gefällt, so lange Niederschlag entsteht. Dann wird abfiltrirt; das Filtrat darf mit Chlorbarium keinen Niederschlag mehr geben. Aus diesem Filtrate wird die Cholalsäure mit Salzsäure gefällt, einige Stunden stehen gelassen, bis sie krystallinisch geworden ist, dann aus Alkohol umkrystallisirt. Sie scheidet sich aus dem Alkohol in Ver-

---

1) Hesse, Ann. Chem. Pharm. Bd. 192 S. 177.

2) Reinke und Rodewald, ebendas. Bd. 207 S. 232.

3) Schulze und Barbieri, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 25 S. 159.

4) Ann. Chem. Pharm. Bd. 67 S. 1.

5) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 262. Hier ist auch die weitere Reinigung beschrieben.

bindung mit 1 Mol. Alkohol, $C_{24} H_{40} O_5 + C_2 H_6 O$, in farblosen Tetraëdern oder Octaëdern aus. Diese Krystalle sind zwar luftbeständig, verlieren aber in Wasser Alkohol unter Trübung und geben diesen Krystallalkohol beim Trocknen bis 130° vollständig ab. In Wasser löst sich Cholalsäure schwer, 1 Thl. in 4000 Thl. kaltem und 750 Thl. kochendem Wasser. Aus heissem Wasser krystallisirt sie wasserfrei in mikroskopischen Krystallen, Schmelzpunkt 195°; aus kalten wässerigen Flüssigkeiten, z. B. sehr verdünnter Essigsäure, krystallisirt sie in rhombischen Tafeln, die 1 Mol. Krystallwasser enthalten. Aus Alkohollösungen scheidet sie sich mit 1 Mol. Alkohol aus; ausser Aethylalkohol, zeigt Methyl-, Allylalkohol dies Verhalten. Auch mit Senfölen geht sie Verbindungen ein. Von Alkohol braucht Cholalsäure mehr als 20 Thl. zur Lösung. Bei dem Erhitzen auf hohe Temperaturen entweder für sich oder mit Eisessig im zugeschmolzenen Rohr oder mit wasserentziehenden Mitteln bildet Cholalsäure Anhydride, welche nicht krystallisiren und gewöhnlich Gemenge verschiedener Anhydride (Choloïdinsäure, Dyslysin etc.) darstellen.

Die freie Cholalsäure und alle ihre bis jetzt untersuchten Verbindungen zeigen rechtsseitige Circumpolarisation. In Alkalilaugen löst sie sich leicht und treibt aus Natriumcarbonat in wässeriger Lösung CO_2 aus. In Alkohol sind die Alkalisalze nicht so leicht löslich und krystallisiren beim Abdampfen dieser Lösungen aus. Durch Aether werden sie krystallisirt aus nicht zu verdünnten Alkalilösungen ausgefällt. Das Bariumsalz krystallisirt in feinen seidenglänzenden oft radial zusammengestellten feinen Nadeln. Es löst sich in 30 Thl. kalten, leichter in heissem Wasser, sehr leicht in Alkohol. Cholalsaures Blei, ebenso cholalsaures Silber, sind unlöslich in Wasser, löslich in heissem Alkohol.

Mit Jod verbindet sich Cholalsäure zu einer krystallinischen im auffallenden Lichte gelben Metallglanz, im durchfallenden Lichte schön blaue Färbung zeigenden Verbindung. Wenn man 0,02 gr krystallisirte Cholalsäure in 0,5 gr Alkohol löst und der Lösung 1 cbcm $^1/_{10}$ normale Jodlösung hinzufügt und das Gemisch allmälig mit Wasser verdünnt, so erstarrt die anfangs braune Flüssigkeit plötzlich zu einem dunkeln Brei mikroskopischer Nadeln, die im auffallenden Lichte den gelben Metallglanz und im durchfallenden Lichte blaue Färbung zeigen.*)

Diese Reaction unterscheidet die Cholalsäure von anderen Gallensäuren, wie die Choleïnsäure von Latschinoff, die gepaarten Gallensäuren, die Hyocholalsäure, welche diese Reaction ebensowenig geben

*) Mylius, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11. S. 306.

als diejenigen Säuren, welche durch Reduction oder Oxydation aus der Cholalsäure entstehen.

In concentrirter Schwefelsäure löst sich die Cholalsäure mit baldigem Eintritt grüner Fluorescenz (übereinstimmend mit anderen Gallensäuren). Geringe Menge der Cholalsäure in wässeriger Lösung mit ein wenig Zucker oder einer Spur Furfurol versetzt und dann mit concentrirter Schwefelsäure tropfenweise allmälig mehr und mehr gemischt giebt die Pettenkofer'sche Reaction (§ 141), so wie andere Gallensäuren.

Durch Reduction in Folge von Fäulniss geht die Cholalsäure über in Desoxycholsäure $C_{24}H_{40}O_4$, durch Oxydation wird sie übergeführt zunächst in Dehydrocholsäure, durch weitere Oxydation in Biliansäure, ohne dass das Molecül eine wesentliche Störung des inneren Baues zu erfahren scheint. Durch fortgesetzte Oxydation wird diese Structur zerstört. Nach den Untersuchungen von Mylius[1]) enthält das Cholalsäuremolecül eine Carboxyl-, ferner 2 endständige und eine nicht endständige Hydroxylgruppen, so dass ihre Structur in der Formel $C_{20}H_{31}\left\{\begin{array}{l}COOH\\ CH, OH\\ (CH_2, OH)_2\end{array}\right.$ ausgedrückt werden kann.

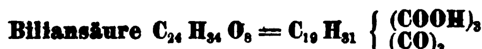
Desoxycholsäure $C_{24}H_{40}O_4$.

140. Die Desoxycholsäure wurde von Mylius[2]) aus faulender Rindsgalle neben Cholalsäure dargestellt und untersucht, auch durch Fäulniss reiner Cholalsäure als Natriumsalz mit Pankreas 8 Tage bei 38—40° dargestellt. Diese Säure schmilzt bei 160—170°, ist in kaltem Alkohol leichter löslich als Cholalsäure; bei dem freiwilligen Verdunsten dieser Lösung hinterbleibt ein Syrup, der nach einigen Stunden zu einer strahligen Krystallmasse erstarrt. Die Alkalisalze sind in Wasser leicht löslich, sie werden aus dieser Lösung durch Alkali im Ueberschuss als Oel abgeschieden. Von der Cholalsäure ist sie verschieden 1) durch ihre Leichtlöslichkeit in Alkohol, 2) durch ihre Schwerlöslichkeit in Essigsäure, 3) durch ihren rein bittern, gar nicht süssen Geschmack, Kratzen im Schlunde. 4) Das Natriumsalz der Säure wird durch 10procentige Natronlauge aus wässeriger Lösung gefällt, während das cholalsaure Natrium nicht gefällt wird. 5) Das Bariumsalz der Säure wird aus selbst sehr verdünnter Lösung in Ammoniak durch Bariumchlorid in der Kälte gefällt, während zum Fällen des cholalsauren Bariums Erhitzen der concentrirten Lösung erforderlich wird.

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 20 S. 1968.
[2]) Ebendas. Bd. 19 S. 373.

Dehydrocholsäure $C_{24} H_{34} O_5$.

wurde zuerst von Hammarsten[1]) durch Einwirkung von Chromsäure auf Cholalsäure in Eisessig dargestellt in sehr guter Ausbeute. Nach dem Umkrystallisiren aus Alkohol erscheint sie in Nadeln von 231—232° Schmelzpunkt. Die Säure verbindet sich bei dieser Darstellung nicht mit Alkohol, enthält auch kein Krystallwasser. Sie vereinigt sich mit Hydroxylamin zu einem Trialdoxim, an dem 2 Aldehydgruppen und eine Ketongruppe betheiligt erscheinen. Beim Kochen in alkoholischer Lösung nimmt sie Alkohol in Esterverbindung leicht auf (Cohn) [2]).



Biliansäure $C_{24} H_{34} O_8 = C_{19} H_{31} \left\{ \begin{matrix} (COOH)_3 \\ (CO)_2 \end{matrix} \right.$

Dreibasische Säure aus Cholalsäure oder Dehydrocholsäure durch Oxydation mittelst chromsaurem Kali und Schwefelsäure neben der Isobiliansäure erhalten wird nach Ueberführung mittelst richtigem Zusatz von Aetzbaryt in das saure Barytsalz oder durch Kali in das saure Kaliumsalz von den andern in der Mischung noch vorhandenen Körpern abgetrennt durch Alkohol, in dem die sauren Salze wenig löslich sind. Das isobiliansaure Barytsalz ist in heissem Wasser fast unlöslich, in kaltem leicht löslich, während das biliansaure Barium auch in heissem Wasser gut löslich ist. Im Uebrigen vergl. die Angaben des Entdeckers der Biliansäure Cleve[3]), von Latschinoff[4]) und Mylius.[5])

Choleïnsäure $C_{25} H_{42} O_4$ (?).

Diese mit der Desoxycholsäure vielleicht homologe Säure, welche von Latschinoff[6]) zuerst dargestellt ist, Schmelzpunkt 185—190°, schwerer löslich in Alkohol als Cholalsäure, findet sich neben Cholalsäure in der Rindergalle, ist zwar durch die Unlöslichkeit ihres Barytsalzes in Wasser gut von der letzteren zu trennen, aber besonders bezüglich ihrer Stellung zur Desoxycholsäure noch weiter zu untersuchen.[7]) Auch die aus menschlichen Leichengallen von H. Bayer[8]) dargestellte und

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 14 S. 71. Latschinoff, ebendas. Bd. 18 S. 3045. Mylius, ebendas. Bd. 19 S. 2005.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 493.

[3]) Bull. soc. chim. T. 35 p. 373 u. 429.

[4]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 18 S. 3046 u. Bd. 19 S. 480.

[5]) Ebendas. Bd. 19 S. 2000 u. Bd. 20 S. 1981.

[6]) a. a. O.

[7]) Mylius, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 265.

[8]) Ebendas. Bd. 3 S. 292.

beschriebene Anthropocholsäure ist nach den Untersuchungen von Schotten[1]) und weiteren analytischen Bestimmungen des Bariumgehaltes im Barytsalze und der Lösungsverhältnisse der freien Säuren in Uebereinstimmung mit der Choleïnsäure oder Desoxycholsäure. Ohne Zweifel ist sie Fäulnissproduct.

Durch trockne Destillation der freien Cholalsäure[2]) für sich wird keine CO_2 abgespalten, aber es destillirt zunächst viel Wasser über, dann ein zähflüssiges gelbbraunes, grün fluorescirendes Oel, welches nicht mit den Wasserdämpfen flüchtig ist und hauptsächlich über 300° übergeht. Es hat ungefähr die Zusammensetzung $C_{48} H_{66} O_3$, löst sich in Aether, ziemlich in heissem Alkohol, nicht in kaltem Alkohol oder Wasser; dieses Oel giebt die Pettenkofer'sche Probe nicht.

Die Hyocholalsäure $C_{25}H_{40}O_4$ findet sich mit Glycin und Taurin gepaart in der Schweinsgalle, ist dagegen ohne diese Paarlinge noch nirgends aufgefunden. Sie löst sich leicht in Alkohol oder Aether, nicht in Wasser. Sie krystallisirt schwer in kleinen Warzen und ihre Alkalisalze werden wie Seifen durch concentrirte Salzlösungen gefällt. Die Hyocholalsäure giebt die Pettenkofer'sche Reaction.[3])

Die Chenocholalsäure $C_{27} H_{44} O_4$, der vorigen in der Zusammensetzung homolog, wird aus der Taurochenocholsäure durch Kochen mit Barytwasser erhalten (vergl. § 144). Sie krystallisirt sehr schwer beim Stehen der alkoholischen mit Wasser versetzten Lösung, ist unlöslich in Wasser, löslich in Alkohol oder Aether; die Lösungen reagiren sauer, die Säure giebt die Pettenkofer'sche Reaction, wird durch Kalilauge gelöst, aber in concentrirter Kalilauge ist das Kalisalz nicht löslich. Das Barytsalz ist unlöslich in Wasser.[4])

Nachweis der Gallensäure. Pettenkofer's Gallenprobe.

141. In concentrirter Schwefelsäure löst sich Cholalsäure auf. Fügt man zu einer etwas Cholalsäure enthaltenden wässerigen Flüssigkeit im Probirglase ein wenig Rohrzucker und dann allmälig tropfenweise unter Umschütteln concentrirte Schwefelsäure, indem man durch Erwärmen oder Abkühlen in kaltem Wasser die Temperatur auf etwa 70° erhält, so tritt, wenn die zunächst gefällte Cholalsäure durch den weiteren Zusatz der Schwefelsäure wieder gelöst ist, und noch weiter Schwefelsäure zugesetzt wird, eine zuerst kirschrothe, dann prachtvoll purpurrothe Färbung der Flüssigkeit ein, die sich nun unter allmäligem Dunklerwerden mehr in eine blaurothe Farbe im Verlaufe von 8 Tagen umwandelt. Von Mylius[5]) wurde nachgewiesen, dass diese Gallenreaction

---

[1]) Schotten, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 175.

[2]) Schotten a. a. O.

[3]) Strecker und Gundlach, Annal. Chem. Pharm. Bd. 62 S. 205.

[4]) Heintz und Wislicenus, Poggendorff's Ann. Bd. 108 S. 547 und R. Otto, Zeitschr. f. Chem. 1868 S. 635.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11 S. 493.

auf der Einwirkung des Furfurols beruht, welches aus dem Zucker durch Schwefelsäure gebildet wird.

Anwesenheit von Albuminstoffen und solchen Körpern, die mit Schwefelsäure leicht sich zersetzen, sowie Anwesenheit von viel Farbstoffen oder oxydirenden Substanzen beeinträchtigen die Reaction sehr.

Albuminstoffe geben mit concentrirter Schwefelsäure auch ähnliche Purpurfärbung, ebenso Amylalkohol und andere organische Körper. Weitere Angaben über die Pettenkofer'sche Probe giebt Bischoff (Zeitschr. f. ration. Med. Ser. 3. Bd. 21 S. 126).

Nach Schenk*) giebt die purpurrothe Lösung der mit Schwefelsäure und Zucker behandelten Gallensäuren in passender Verdünnung mit Alkohol bei der Spectralprüfung einen Absorptionsstreif zwischen D und E neben letzterer Linie und einen zweiten vor F. Diese Spectralerscheinung tritt bei der gleichen Behandlung von Eiweissstoffen, Oelsäure, Amylalkohol nicht ein.

In concentrirter Schwefelsäure gelöst giebt Cholalsäure eine sehr stark grün fluorescirende Lösung nach kurzer Zeit. Auch dies Verhalten kann zur Erkennung der Gallensäure mit benutzt werden.

Auch in einer weingeistigen Lösung der Gallensäure kann diese Farbenreaction mit Schwefelsäure bei vorsichtigem Zusatz hervorgerufen werden. Diese Reaction ist viel weniger zuverlässig als die Pettenkofer'sche Probe.

Aus Fäces oder Dickdarminhalt kann die Cholalsäure mit Alkohol vollkommen extrahirt werden. Man dampft das abfiltrirte Extract im Wasserbade unter Zusatz von etwas Essigsäure zum Syrup ab und zieht den Rückstand mit kaltem Wasser aus. Das Ungelöste übergiesst man mit Barytwasser, fügt noch Wasser hinzu unter Erwärmen, leitet dann Kohlensäure bis zur neutralen Reaction ein, erhitzt jetzt zum Sieden und filtrirt siedend heiss, kocht den Rückstand noch so lange mit Wasser aus, als dieses etwas löst, dampft die vereinigten heiss filtrirten Auszüge auf ein kleines Volumen ab, fügt erst etwas Aether nach dem Erkalten hinzu, darauf Salzsäure, rührt gut um und lässt einige Zeit stehen, wobei der Aether verdunsten kann. Dann filtrirt man, wäscht die ausgeschiedene Cholalsäure mit etwas Wasser, löst sie in Alkohol, entfärbt nöthigenfalls mit Thierkohle, dampft auf ein kleineres Volumen ein und lässt dann zur Krystallisation einige Zeit stehen.

Die Krystallformen, die rechtsseitige Circumpolarisation der alkoholischen Lösung, die aromatischen Producte der trocknen Destillation

*) Anatom. physiol. Untersuchungen. Wien 1872 S. 47.

und die Pettenkofer'sche Probe geben dann Bestätigung für die Identität des erhaltenen Körpers mit der Cholalsäure.

Der Nachweis der Cholalsäure im icterischen Harne, sowie in der Galle wird bei der Betrachtung der Untersuchungsmethoden des Harnes und der Galle besprochen werden.

142. Lithofellinsäure $C_{20}H_{36}O_4$, bis jetzt nur in den seltenen orientalischen Bezoaren gefunden, die fast ganz aus dieser Säure bestehen. Man extrahirt sie aus den gepulverten Bezoaren mit kochendem Alkohol; aus der concentrirten alkoholischen Lösung scheidet sie sich allmälig in Krusten stark glänzender, farbloser, harter, wasserfreier Krystalle aus. Diese Krystalle stellen sehr spitzige Rhomboëder oder dreiseitige Säulen meist mit zugerundeten Flächen dar. Um sie zu reinigen, versetzt man die spirituöse Lösung der Säure mit kohlensaurem Natron im Ueberschusse, verdunstet zur Trockne, extrahirt mit absolutem Alkohol, filtrirt, verdunstet den Alkohol, löst den Rückstand in Wasser und fällt mit Chlorbarium. Der Niederschlag wird mit heissem Wasser ausgewaschen, die Lösung darauf durch Abdampfen concentrirt, und dann Essigsäure hinzugefügt, so lange Niederschlag erfolgt. Die gefällte reine Lithofellinsäure wird nach dem Abfiltriren und Waschen mit Wasser in wenig siedendem Weingeist gelöst; nach dem Erkalten scheidet sie sich allmälig schön krystallisirt aus.

Die Krystalle schmelzen bei 205°, etwas darüber erhitzt, bleibt die Masse amorph. An der Luft stark erhitzt, giebt die Lithofellinsäure dieselben aromatischen Dämpfe, wie die Cholalsäure; sie giebt ferner sehr schöne Pettenkofer'sche Reaction, besitzt rechtsseitige Circumpolarisation nach Roster*) $(\alpha)_D = +13,76^0$, ist leicht löslich in heissem, schwer in kaltem Alkohol und wenn krystallisirt unlöslich in Wasser, dagegen scheint die aus ihren Salzen eben abgeschiedene weiche amorphe Säure in Wasser löslich zu sein. In Aether ist sie schwer löslich. Ihre Alkalisalze krystallisiren sehr schwer, das Barytsalz krystallisirt in feinen Nadeln beim Erkalten der heiss concentrirten wässerigen Lösung. Die Alkalisalze sind leicht löslich in Wasser, werden aber durch Aetzalkali, kohlensaures Alkali oder andere Salze aus der concentrirten heissen Lösung in öligen Tropfen ausgeschieden. Die Lithofellinsäure hat in Verbindung mit Alkalien grössere spec. Drehung als im freien Zustande (Roster). Durch Kochen mit starker Säure oder Alkalilauge werden amorphe Substanzen gebildet.

---

*) Gaz. chim. italian. T. 9 p. 364.
G. Roster, Su l'acido lithofellico etc. Firenze 1879.

Zum Nachweise der Lithofellinsäure können besonders die Krystallformen, der hohe Schmelzpunkt, die aromatischen Destillationsproducte, die Pettenkofer'sche Reaction, das Verhalten der Alkali- und Barytsalze dienen.

Neben Lithofellinsäure fand Roster[1]) in orientalischen Bezoaren die einbasische Lithobilinsäure $C_{30}H_{56}O_6$ (?), Schmelzpunkt 199°, welche krystallisirt erhalten wurde, unlöslich in Wasser, leicht löslich in Alkohol, mässig löslich in Aether ist und stärkere Rechtsdrehung als Lithofellinsäure zeigt.

Glycocholsäure $C_{26}H_{43}NO_6$.

143. Die Glycocholsäure, auch Cholsäure genannt, findet sich besonders reichlich in der Rindergalle, in menschlicher Galle soll sie gleichfalls sehr reichlich enthalten sein, bei Fleischfressern fehlt sie ganz, so weit deren Gallen bis jetzt untersucht sind. Sie ist in der Rindergalle hauptsächlich an Natron gebunden. In geringer Quantität ist sie in den Excrementen der Rinder nachgewiesen, auch icterischer menschlicher Harn enthält fast immer Spuren davon.

Man erhält sie aus der Rindergalle durch Eindampfen derselben zum dicken Syrup, Extraction desselben mit starkem Alkohol, Entfärben des Extractes mit Thierkohle, Abdestilliren des Alkohols und Fällung der concentrirt alkoholischen Lösung durch einen Ueberschuss von Aether. Das glycocholsaure und taurocholsaure Natron werden hierdurch niedergeschlagen; man löst den Niederschlag nach einiger Zeit (er verwandelt sich in einigen Minuten, Stunden bis Tagen in schöne seideglänzende Krystallbüschel) in nicht zu wenig Wasser und fügt so lange verdünnte Schwefelsäure hinzu, bis eine starke, beim Umrühren bleibende Trübung entstanden ist, nach einigen Stunden zeigt sich die ganze Flüssigkeit zum Brei feiner, seideglänzender Nadeln erstarrt, die man auf einem Filter sammelt, auspresst, mit Wasser wäscht und durch Lösen in der gerade hinreichenden Menge Alkohol und Fällung mit sehr viel Aether in farblosen, dünnen langen, sehr schön glänzenden Nadeln rein krystallisirt erhält.

Ein etwas kürzeres Verfahren ist von Gorup-Besanez[2]) empfohlen: Ochsengalle wird im Wasserbade bis nahe zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit Weingeist von 90 pCt. extrahirt, der Alkohol abdestillirt oder verdunstet und der nöthigenfalls mit Wasser verdünnte Rückstand mit Kalkmilch versetzt. Nach gelindem Erwärmen wird filtrirt, das meist schwach gelbe Filtrat nach dem Erkalten mit verdünnter Schwefelsäure bis zur bleibenden Trübung versetzt (Ueber-

---

[1]) Roster, Sopra un nuovo acido lithobilico etc. Firenze 1879.

[2]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 157. S. 286.

schuss der Schwefelsäure ist zu vermeiden). Nach wenigen Stunden ist die Flüssigkeit zu einem Krystallbrei erstarrt, der abfiltrirt und ausgepresst nochmals in viel Kalkwasser gelöst und mit verdünnter Schwefelsäure bis zur bleibenden Trübung versetzt nach einiger Zeit die Säure in blendend weissen Nadeln liefert.

Häufig gelingt es durch Versetzen der concentrirten Rindsgalle mit genügender Quantität Salzsäure, Aetherzusatz und Stehenlassen ohne Weiteres schön krystallisirte Glycocholsäure zu erhalten, die in der Sonne nach Waschen mit Wasser schnell sich entfärbt.

Die Glycocholsäure löst sich sehr schwer in kaltem, leichter in heissem Wasser und krystallisirt beim Erkalten aus, auch in Aether lösen sich nur Spuren, leicht löslich ist sie dagegen in starkem Alkohol. Die alkoholische Lösung wird durch Wasserzusatz getrübt und scheidet Flocken und Tropfen ab, die sich allmälig in feine Krystalle umwandeln. In Alkalilaugen, auch den Lösungen kohlensaurer Alkalien ist sie leicht löslich, indem sie sich mit dem Alkali verbindet. Sie besitzt süsslichen Geschmack und reagirt in ihren Lösungen sauer, treibt beim Abdampfen mit kohlensauren Salzen die Kohlensäure aus und bildet in Wasser oder Alkohol gut lösliche Alkalisalze. Man erhält dieselben beim kochenden Abdampfen ihrer alkoholischen Lösung in dünnen vierseitigen Prismen krystallisirt. Das Barytsalz ist in Wasser leicht löslich, auch das Silbersalz löst sich etwas in Wasser, besonders beim Erwärmen. Die wässerige Lösung glycocholsaurer Alkalien wird durch neutrales essigsaures Bleioxyd gefällt, der Niederschlag löst sich in heissem Alkohol und scheidet sich beim Erkalten zum Theil pulverig oder flockig wieder aus. Die Alkalisalze in Wasser gelöst vermögen verseifbare Fette in geringer Menge klar aufzulösen.

Sowohl die freie als die an Basen gebundene Glycocholsäure besitzt rechtsseitige Circumpolarisation. Die specifischen Drehungen der alkoholischen Lösungen für die Linie D sind:

Glycocholsäure	$+ 29,0^0$
Glycocholsaures Natron	$+ 25,7^0$.

Durch anhaltendes Kochen mit verdünnter Salzsäure oder Schwefelsäure, ebenso durch Kochen mit Alkalilauge oder heiss gesättigtem Barytwasser wird die Glycocholsäure in Cholalsäure und Glycocoll zersetzt. Trägt man dagegen Glycocholsäure in concentrirte Schwefelsäure ein,so löst sie sich auf, erwärmt man dann, so scheidet sich Cholonsäure $C_{26}H_{41}NO_5$ als amorpher Niederschlag aus, welcher in Wasser sich nicht löst, in Alkohol leicht löslich ist und nicht krystallisirt. Diese Säure bildet sich auch neben Cholalsäure beim Kochen von Glycocholsäure mit starker Salzsäure. Ihr Barytsalz ist in Wasser unlöslich und

hierdurch unterscheidet sie sich sowohl von der Glycocholsäure, als auch von der Cholalsäure. Auch die Cholonsäure bewirkt rechtsseitige Circumpolarisation und hat eine der Glycocholsäure etwa gleiche specifische Drehung.

Um die Glycocholsäure in thierischen Flüssigkeiten aufzusuchen, verfährt man nach den bei der Taurocholsäure im folgenden Paragraphen angegebenen Methoden.

Taurocholsäure $C_{26} H_{45} N S O_7$.

144. Neben der Glycocholsäure findet sich die Taurocholsäure, auch Choleïnsäure genannt, in der Rindsgalle. Die Hundegalle enthält allein Taurocholsäure, die Menschengalle schwankende geringe Mengen. Auch die Galle der Schlangen und Fische enthält Taurocholsäure. In dem icterischen Harne können geringe Mengen derselben vorhanden sein. In der Galle ist diese Säure stets an Alkali gebunden.

Man stellt Taurocholsäure am Reinsten aus der Hundegalle dar, indem man dieselbe mit Alkohol fällt, Blutkohle hinzufügt, filtrirt und mit Alkohol auswäscht, die Flüssigkeit zur Trockne verdunstet, den Rückstand mit wenig absolutem Alkohol extrahirt, filtrirt, diese Lösung mit einem Ueberschusse von Aether schüttelt und dann verschlossen stehen lässt, bis der zuerst amorphe Niederschag krystallinisch geworden ist. Nach Abgiessen des Aethers löst man die Krystalle in Wasser und fällt mit Bleiessig und etwas Ammoniak, wäscht den Niederschlag auf dem Filter, zertheilt ihn in möglichst starkem Alkohol, leitet Schwefelwasserstoff bis zur völligen Zersetzung des Niederschlags hindurch, filtrirt und dampft die alkoholische Lösung bei sehr mässiger Wärme auf ein kleines Volumen ein und fällt mit grossem Ueberschuss von wasserfreiem Aether. Der syrupartige Niederschlag verwandelt sich beim Stehen grösstentheils in feine, seideglänzende, an der Luft schnell zerfliessende Krystalle. Die Säure zeigt stark saure Reaction, ist sehr löslich in Wasser oder Alkohol, zersetzt sich beim Abdampfen der wässerigen Lösung zur Trockne und ist überhaupt auch in ihren Verbindungen viel zersetzlicher als die Glycocholsäure. Ihr Natronsalz wird bei der beschriebenen Darstellungsmethode krystallisirt in sehr feinen Nadeln sehr ähnlich dem glycocholsauren Natron erhalten. Ihr Barytsalz ist leicht löslich in Wasser, überhaupt sind ihre Salze in Wasser löslich, nur durch essigsaures Bleioxyd und Ammoniak wird sie vollständig gefällt. Sie besitzt in ihren Lösungen rechtsseitige Circumpolarisation, die spec. Drehung des in Alkohol gelösten taurocholsauren Natron ist für die Linie D $+ 24{,}5^0$, in wässeriger Lösung zeigt dies Salz schwächere Drehung ebenso wie auch das glycocholsaure Natron in

wässeriger Lösung eine Verminderung der Circumpolarisation ergiebt. Durch Kochen mit verdünnter Säure oder mit Alkalilaugen, sogar nur mit Wasser wird die Taurocholsäure leicht zerlegt. Sie zerfällt dabei in Taurin und Cholalsäure in der gleichen Weise, wie die Glycocholsäure sich, wenngleich viel schwerer, in Glycocoll und Cholalsäure spaltet. Die gleiche Zersetzung erleidet die Taurocholsäure auch bei der Fäulniss der Galle und bei ihrer Wanderung durch den Darmcanal.

Zu der Trennung der Taurocholsäure von Glycocholsäure und Cholalsäure benutzt man besonders das verschiedene Verhalten dieser Säuren zur Bleizuckerlösung. Durch die letztere werden Cholalsäure und Glycocholsäure gefällt, während nur sehr geringe Mengen von Taurocholsäure mitgerissen werden, wenn die Flüssigkeit nicht stark alkalisch ist. Nach der Ausfällung dieser Säure kann die Taurocholsäure mit Bleiessig und etwas Ammoniak gefällt werden. Den Bleiniederschlag bringt man in Alkohol, fügt überschüssige Lösung von kohlensaurem Natron hinzu, dampft das Ganze zur Trockne ab und extrahirt das Natronsalz der Taurocholsäure aus dem Rückstande mit absolutem Alkohol, der die übrigen Substanzen ungelöst lässt. Zum weiteren Nachweis der Taurocholsäure dient ihre Zerspaltung durch 12stündiges Kochen mit heiss gesättigtem Barytwasser (am Besten im zugeschmolzenen Glasrohre im Wasserbade) in Cholalsäure und Taurin. Man leitet nach dem Kochen Kohlensäure bis zur Sättigung des freien Baryts hindurch, verdampft zur Trockne, extrahirt den Rückstand mit wenig kaltem Wasser, welches das Taurin löst, dann kocht man denselben mit Wasser aus, filtrirt heiss und weist dann in der ersteren Lösung nach § 94 das Taurin und nach § 139 in der letzteren Lösung die Cholalsäure nach.

In den meisten Fällen reicht es hin, den Schwefelgehalt nach § 23 zu bestimmen und ausserdem die Pettenkofer'sche Probe zu machen, um bei einer in Alkohol löslichen Substanz Sicherheit zu erlangen, ob sie Taurocholsäure enthält. Natürlich muss die Abwesenheit von Schwefelsäure sicher sein, dieselbe also, falls sie vorhanden, durch Fällung mit etwas Barytwasser entfernt sein, ehe man mit Salpeter verbrennt und auf Schwefelsäure prüft.

Glycohyocholsäure $C_{27}H_{43}NO_5$. Diese Säure, auch Hyocholsäure genannt, ist bis jetzt nur in der Schweinegalle gefunden, aus der man ihr Natronsalz nach Entfärbung mittelst Thierkohle durch Zusatz von krystallisirtem schwefelsauren Natron bis zur Sättigung abscheidet. Man wäscht den Niederschlag mit concentrirter Lösung von schwefelsaurem Natron, löst den Niederschlag in Wasser und fällt mit Salzsäure die Säure aus. Die so erhaltene Hyoglycocholsäure ist in Wasser unlöslich, farblos, harzartig, noch nicht krystallisirt erhalten, leicht löslich in Alkohol, wenig löslich in Aether, schmeckt bitter, giebt saure Reaction in alkoholischer Lösung, verbindet sich mit Alkalien zu in Wasser löslichen Salzen; die

Salze der alkalischen Erden und schweren Metalle sind unlöslich in Wasser, aber meist löslich in Alkohol. Die Alkalisalze werden durch Salze, z. B. schwefelsaures Natron, bis zur Sättigung eingetragen aus der wässerigen Lösung ausgefällt. Beim Kochen mit Salzsäure oder Alkalilauge wird die Glycohyocholsäure in Glycocoll und Hyocholalsäure zerlegt (vergl. § 139).

Taurohyocholsäure $C_{27}H_{45}NSO_6$, auch Hyocholeïnsäure genannt, findet sich in geringer Menge neben der Hyoglycocholsäure in der Schweinegalle, ist aber noch nicht in reinem Zustande dargestellt. Sie wird durch Säuren oder Alkalien leicht in Taurin und Hyocholalsäure zerlegt[1]).

Taurochenocholsäure[2]) findet sich in der Gänsegalle. Sie ist nur amorph bekannt, leicht löslich in Wasser oder Alkohol. Ihr Natronsalz wird aus der Gänsegalle durch Alkohol ausgezogen, durch Zusatz von Aether pflasterartig gefällt, mit einer concentrirten Lösung von schwefelsaurem Natron gewaschen, getrocknet, in absolutem Alkohol gelöst und die klar filtrirte Lösung mit Aether gefällt. Nach längerem Stehen setzen sich kleine rhombische Tafeln des taurochenocholsauren Natron von der Zusammensetzung $C_{29}H_{50}NNaSO_7$ (nach dem Trocknen bei 140° aber $C_{29}H_{48}NNaSO_6$) ab. Dies Salz wird in wässeriger Lösung durch Bleiessig gefällt. Aus dem Niederschlage in Alkohol vertheilt kann man die Taurochenocholsäure durch Schwefelwasserstoffeinleiten lösen und durch Abdampfen der Lösung gewinnen, dabei bildet sich etwas unlösliche Parataurochenocholsäure (?). Durch anhaltendes Kochen mit Barytwasser wird sie in Taurin und Chenocholalsäure zerlegt. Sie giebt gegen Zucker und Schwefelsäure die allgemeine Gallensäurereaction (vergl. § 141).

Guanogallensäure. Im Peru-Guano findet sich eine Gallensäure, welche durch Wasser ausgezogen und mit Salzsäure gefällt wird. Alkohol löst sie auf und man erhält sie nach Entfärben mit Blutkohle beim Abdampfen der alkoholischen Lösung als amorphe, gelbliche, in Wasser unlösliche Masse, welche etwas Stickstoff, keinen Schwefel enthält. Das Natronsalz ist leicht löslich, das Barytsalz etwas schwerer in Wasser löslich, beide lösen sich leicht in Alkohol. Diese Säure giebt die Pettenkofer'sche Reaction gleichfalls ganz gut, auch löst sie sich in concentrirter Schwefelsäure zu einer grünlich fluorescirenden Flüssigkeit[3]).

Farbstoffe.

Hämochromogen.

145. Bei der Zersetzung der Oxyhämoglobine (vergl. § 187) durch Säuren oder Alkalien entsteht stets Hämatin neben Eiweissstoffen, bei der Einwirkung dieser Agentien auf die Hämoglobine bildet sich zunächst stets Hämochromogen, welches bei Anwesenheit selbst geringer Quantität von freiem Sauerstoff sofort in Hämatin übergeht, bei Abwesenheit von Sauerstoff in saurer Lösung bald zerfällt und unter Abspaltung von Eisen in Hämatoporphyrin übergeht, in alkalischer Lösung dagegen bestehen bleibt. In schwachen Alkali-

[1]) A. Strecker, Ann. Chem. Pharm. Bd. 62 S. 205.

[2]) Heintz u. Wislicenus, Pogg. Ann. Bd. 108 S. 547 u. R. Otto, Zeitschrift für Chem. 1868 S. 633.

[3]) Hoppe-Seyler, Archiv f. path. Anat. Bd. 26 S. 525.

laugen oder Sodalösung löst sich das Hämochromogen mit schön kirschrother Farbe und bei genügender Verdünnung zeigen sich bei der Spectraluntersuchung zwei sehr deutliche Absorptionsstreifen, von denen der eine tief schwarze Streifen zwischen D und E, etwas näher an D als an E, doch fast in der Mitte zwischen beiden Liniengruppen steht, während der andere nicht so dunkele und bei der Verdünnung der Lösung früher verschwindende Streifen auf der Liniengruppe E liegt, sich bis oder über b ausbreitet und ungefähr eben so weit auch von E nach D hin. Auch bei starker Concentration der Lösung zeigen sich keine anderen Absorptionsstreifen und das blaue Licht bis G hin ist sehr wenig absorbirt. Durch Erhitzen der Lösung von Hämochromogen in hinreichend starker Alkalilauge auf 100° wird das Hämochromogen als violett grauer pulveriger Niederschlag abgeschieden, der sich nach dem Erkalten theilweise oder ganz wieder löst [1]).

Die Isolirung des Hämochromogens ist bis jetzt noch nicht möglich gewesen wegen der grossen Zersetzlichkeit mit Sauerstoff und Säuren. Sauerstoff nimmt es unter Veränderung der Färbung sofort auf, sowie die Lösung an die Luft kommt; selbst verdünnte Säuren in alkoholischer Lösung entziehen ihm auch bei gewöhnlicher Temperatur sehr bald das Eisen und es bildet sich das an der Luft beständige Hämatoporphyrin, dessen Darstellung auch aus Hämatin leicht gelingt und dessen Reduction mit Zinn und Salzsäure u. s. w. zu Farbstoffen führt, die mit dem Urobilin sehr nahe verwandt zu sein scheinen. Eine künstliche Umwandlung des Hämochromogen in Bilirubin oder einen anderen Gallenfarbstoff ist noch nicht gelungen.

Die von Stokes[2]) beschriebenen Spectralerscheinungen des sog. reducirten Hämatin sind mit denen der alkalischen Lösung des Hämochromogens identisch.

Kohlenoxydhämochromogen wird aus Kohlenoxydhämoglobin durch Einwirkung von Alkalilauge, bei Abwesenheit von Sauerstoff gebildet und bei der Erhitzung auf 100° aus dieser Lösung abgeschieden; es löst sich nach dem Erkalten allmälig wieder auf. Die Absorptionserscheinungen sind übereinstimmend mit Kohlenoxydhämoglobin. Es giebt beim Erhitzen im Wasserstoffstrome das Kohlenoxyd ab und geht in Hämochromogen über.

Hämochromogen bildet sich sehr häufig in Spirituspräparaten von Pankreas, Leber, Milz, Muskeln. Uebergiesst man die Organe im Ganzen oder nach ihrer Zerkleinerung mit Alkohol und lässt ohne Umrühren einige Tage stehen, so zeigen sich die unteren Schichten rosenroth bis

[1]) Zeitsch. f. phyiol. Chem. Bd. 13 S. 477.
[2]) Proceedings of the royal Soc. June 1864.

purpurroth, die oberen grau bis bräunlich und die spectroskopische Untersuchung des reflectirten Lichtes ergiebt in den rothen unteren Schichten die Spectralstreifen des Hämochromogen mit aller Schärfe. Bringt man sie an die Luft, so werden sie bald oberflächlich graubraun durch Hämatinbildung. Uebergiessen mit Aether wirkt ähnlich wie Alkohol, und so sind wahrscheinlich die Angaben von Struve*) zu erklären. Bei längerem ruhigen Stehen unter Alkohol verliert sich langsam von oben nach unten die Hämochromogenfärbung entsprechend dem Sauerstoffzutritt und Aufhören der Fäulniss durch Diffusion des Alkohol.

Hämatin.

146. Das Hämatin ist nur als Zersetzungsproduct des Oxyhämoglobins oder Oxydationsproduct des Hämochromogens bekannt, findet sich als solches im Organismus, selten in alten Blutextravasaten, häufig im Darmcanale, wo es durch die Einwirkung des Magensaftes auf ausgetretenes Blut oder auf den Blutfarbstoff in Speisen gebildet wird oder wohin das Hämatin in den Speisen bereits präformirt gelangt. Es findet sich daher auch bei Fleischnahrung stets in den Fäces.

Die Reindarstellung des Hämatin hat bedeutende Schwierigkeit zu überwinden. Frei von Fetten, Cholesterin und Eiweissstoffen erhält man es vielleicht 1) durch Schütteln von defibrinirtem Blut mit Aether, Zusatz von starker Essigsäure, wiederholtes Schütteln, Abgiessen und Filtriren der dunkelbraunen ätherischen Lösung sofort nachdem sie sich abgeschieden hat, Stehenlassen, Abfiltriren des ausfallenden Niederschlages und Waschen desselben mit Aether, Alkohol und Wasser.

2) Durch Fällen von Blut mit überschüssigem kalten Weingeist, Erwärmen des abfiltrirten Niederschlages mit schwefelsäurehaltigem Alkohol, Stehenlassen der warm filtrirten Lösung und Waschen des an den Glaswänden sich niederschlagenden schwefelsauren Hämatin mit Wasser und dann mit etwas Alkohol und Aether.

Jedenfalls sind diese Methoden zur Gewinnung des Hämatin weniger geeignet als die Darstellung desselben aus den Häminkrystallen (vergl. folg. §). Die mit starker Essigsäure gekochten, mit viel Wasser, endlich mit Alkohol und Aether gewaschenen Häminkrystalle werden in äusserst verdünnter reiner Kalilauge gelöst, die filtrirte Lösung mit verdünnter Salzsäure gefällt und mit heissem Wasser der flockige braune Niederschlag gewaschen, bis das ablaufende Wasser durch salpetersaures Silber keine Trübung mehr giebt (es ist langes Auswaschen hierzu erforderlich). Das Hämatin wird dann erst bei mässiger Wärme, endlich bei 120° bis 150° getrocknet.

*) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 9 S. 623.

Das so erhaltene Hämatin $C_{34} H_{35} N_4 Fe O_5$ (Hoppe-Seyler) oder $C_{32} H_{32} N_4 Fe O_4$ (Nencki und Sieber), vergl. folgenden Paragraphen, besitzt blauschwarze Farbe und lebhaften Metallglanz, ist nicht erkennbar krystallisirt, giebt aber so wie manches in Glanz und Farbe ihm ähnliche Rothgiltigerz einen braunen Strich auf Porzellan und fein pulverisirt ein dunkelbraunes Pulver, ist somit pleochromatisch. Es kann auf 180° erhitzt werden, ohne dass es sich zersetzt, sehr stark erhitzt verkohlt oder verglimmt es ohne zu schmelzen und sich aufzublähen unter Entwickelung von Blausäure und lässt in der Form der Stücke, die zum Versuche verwendet wurden, ein Skelett von reinem (auch manganfreiem) Eisenoxyd (12,6 pCt. des Hämatin betragend) zurück. Es ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform, ein wenig löslich in Eisessig, besonders in der Wärme. In säurehaltigem Alkohol löst es sich in geringer Menge auf, gar nicht in wässerigen säurehaltigen Flüssigkeiten; es löst sich ferner in allen Alkalilösungen, auch sehr verdünnten, selbst in Alkohol beim Zusammenschütteln mit kohlensaurem Alkali. Die alkalischen Lösungen erscheinen in dickeren Schichten in durchfallendem Lichte schön roth, in dünner Schicht olivengrün, die sauren Lösungen in jeder Dicke der Schicht braun gefärbt. Beide Lösungen absorbiren am Wenigsten das äusserste Roth im Spectrum des Sonnen- oder Lampenlichtes bis etwa zur Spectrallinie B, am Stärksten, wie es scheint, das violette Licht. Bis zu einer Concentration von 0,015 gr Hämatin in 100 CC. Lösung zeigt dieselbe bei einer Dicke der Flüssigkeitsschicht von 1 cm einen schlecht begrenzten Absorptionsstreifen zwischen den Linien C und D, letzterer Linie anliegend; in schwefelsäurehaltigem Alkohol gelöst vor den Spectralapparat gebracht, giebt das Hämatin einen Absorptionsstreifen nahe bei C zwischen dieser Linie und D, ein anderer weniger scharf begrenzter, viel breiterer und bei weiterer Verdünnung etwas früher verschwindender findet sich zwischen D und F. Dieser letztere Streif zerlegt sich bei vorsichtiger Verdünnung der Flüssigkeit zunächst in zwei ungleich dunkle Bänder; das neben F befindliche ist dunkler, der hellste Zwischenraum zwischen E und b. Ein sehr schmaler schwacher Streif erscheint bei gewisser Verdünnung zwischen D und E, dicht neben D. Durch Behandlung mit Schwefelammonium oder einer ammoniakalischen Lösung von weinsaurem Zinnoxydul oder anderen Reductionsmitteln verändert die Hämatinlösung ihre Farbe und zeigt bei der Spectraluntersuchung einen dunklen, schmalen, ziemlich scharf begrenzten Absorptionsstreifen zwischen D und E, der ersteren Linie etwas näher, und einen blasseren Streifen, welcher die Linien E und b einschliesst, die Spectralstreifen des Hämochromogens.

Fügt man zu einer alkalischen Hämatinlösung Cyankalium, so wird

die Lösung durchsichtiger rothbraun, absorbirt am Schwächsten das Licht zu beiden Seiten der Linie C des Sonnenspectrum und zeigt beim Verdünnen einen schlecht begrenzten Absorptionsstreifen zwischen D und E. Die Spectra des Hämatin in diesen verschiedenen Lösungen sind in § 191 im Holzschnitt dargestellt im Vergleiche mit den Spectren des Hämoglobins.

Alkalische Lösungen von Hämatin werden durch Kalk oder Barytsalze in rothbraunen Flocken gefällt, auch Niederschläge von phosphorsaurem Kalk nehmen Hämatin als Lösungen in sich auf. Auf dieser letzteren Eigenschaft beruht eine Methode des Nachweises von Blut im Harne. Enthält der Harn Blutfarbstoff, so giebt er mit Aetzalkali erwärmt einen hämatinhaltigen und daher rothgefärbten Niederschlag von phosphorsaurem Kalk. In ammoniakalischer Lösung scheint das Hämatin allmälige Veränderung zu erleiden; auch beim Trocknen einer solchen Lösung bei 100° wird Ammoniak hartnäckig zurückgehalten in einer Verbindung, die sich in Wasser leicht auflöst. Durch Kochen mit concentrirter Kalilauge erleidet dagegen das Hämatin keine bemerkbare Aenderung, beim Schmelzen mit Kali entweicht Ammoniak, doch geht die Zerlegung sehr langsam vor sich. Auch durch Erhitzen mit starker Salzsäure wird das Hämatin erst über 150° zersetzt, verdünnte Salpetersäure greift es auch beim Kochen schwer an, sehr schnell wird es unter Entfärbung zersetzt, wenn Chlor in seine alkalische Lösung eingeleitet wird. In concentrirter Schwefelsäure löst es sich zu einer dunkelrothen Flüssigkeit ohne Gasentwickelung, wird diese Lösung in Wasser eingetragen, so wird ein eisenfreier Körper gefällt, der in Alkalien leicht löslich und in manchen Eigenschaften dem Hämatin ähnlich ist, bei der Spectraluntersuchung jedoch sich sehr sicher von letzterem unterscheiden lässt. Die Spectra, welche dies eisenfreie Hämatin oder Hämatoporphyrin in Flüssigkeiten nachweist, sind in § 191 abgebildet. Hinsichtlich des Nachweises des Hämatin in Flüssigkeiten und Niederschlägen, sowie der Beziehungen zum Oxyhämoglobin, Hämoglobin vergl. Nachweis des Hämoglobin in demselben Paragraphen.

Salzsaures Hämatin oder Hämin.

147. Die Teichmann'schen Häminkrystalle erhält man durch Kochen einiger Tropfen Blut im Probirglase mit überschüssiger sehr starker Essigsäure im Kleinen oder durch Eindampfen eines Tröpfchens Blut mit 12—20 Tropfen Eisessig nach einmaligem Aufkochen über kleiner Flamme auf dem Wasserbade, man gewinnt auf diese Weise Objecte für den mikroskopischen Nachweis des Blutfarbstoffs. Im grösseren Maassstabe stellt man am Zweckmässigsten nach folgendem

Verfahren ziemlich reine Häminkrystalle dar: Defibrinirtes Blut irgend eines Thieres wird mit grossem Ueberschuss einer vorher bereiteten Mischung von 1 Volumen gesättigter Kochsalzlösung und 10—20 Volumen Wasser gemischt 24 Stunden stehen gelassen, vom Niederschlag die Flüssigkeit abgegossen, der Blutkörperchenbrei mit Wasser in einen Kolben gebracht und mit dem halben Volumen Aether geschüttelt, die Aetherlösung nach einiger Zeit der Ruhe abgehoben, die wässerige Lösung des Blutfarbstoffs etc. filtrirt und in flachen Schalen bei gewöhnlicher Temperatur zum Syrup verdunsten gelassen. Der letztere mit dem 10- bis 20fachen Volumen Eisessig gut zusammengeschüttelt und im Kolben auf dem Wasserbade eine bis zwei Stunden erhitzt. Die Krystalle bilden sich meist schon bei mässigem Erwärmen, doch ist längeres Erhitzen zur vollständigen Ausfällung der Krystalle und Lösung der Eiweissstoffe (die jedoch nie vollständig ist) nöthig. Die Masse wird dann in ein grosses Becherglas ausgegossen und mit dem mehrfachen Volumen Wasser gemischt mehrere Tage stehen gelassen, der auf dem Boden abgesetzte Krystallbrei noch mehrmals mit Wasser gewaschen, mit starker Essigsäure ausgekocht, so lange sich noch Spuren gequollener Eiweissstoffe beigemengt zeigen, wieder mit Wasser gewaschen, dann erst aufs Filter gebracht und mit Alkohol, endlich mit Aether gewaschen. Man erhält auch Häminkrystalle durch Erwärmen von Hämatinlösung in schwefelsäurehaltigem Weingeist nach Zusatz von etwas Wasser und wenig Kochsalz.

Nencki und Sieber[1]) behandeln die gesenkten Blutkörperchen mit Alkohol. Der Niederschlag wird an der Luft getrocknet bei gewöhnlicher Temperatur, zerrieben und mit viel Amylalkohol nach Zusatz von wenig starker Salzsäure gekocht, schnell filtrirt, erkalten lassen. Die im erkaltenden Filtrate ausgeschiedenen Krystalle werden dann mit Wasser, Alkohol und Aether gewaschen.

Man kann die Krystalle noch umkrystallisiren nach folgendem von Gwosdew[2]) angegebenen Verfahren: Man löst die Krystalle in absolutem Alkohol, der mit gepulvertem kohlensauren Kali unter öfterem Umschütteln einige Zeit gestanden hat, filtrirt, wenn nöthig, mischt die Lösung mit dem gleichen Volumen Wasser, säuert mit Essigsäure an und filtrirt den flockigen Niederschlag ab, bringt ihn noch feucht mit sehr wenig Kochsalz in Eisessig, erhitzt auf dem Wasserbade einige Zeit, sammelt die Krystalle auf einem Filter und wäscht mit Wasser gut aus. Durch dies Umkrystallisiren können einige Verunreinigungen

[1]) Arch. f. exp. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 18 u. Bd. 20 S. 325.
Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 17 S. 2267.

[2]) Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss. 1866 Bd. 53. 11. Mai.

wohl entfernt werden, dafür erhält man aber gewöhnlich ein Gemenge von Häminkrystallen mit Hämatin; auch wenn man Häminkrystalle aus getrocknetem Blute oder Blutfarbstoff darstellt, erhält man mit Hämatin verunreinigte Krystalle.

Die nach dem oben angegebenen Verfahren dargestellten Häminkrystalle bilden ein seideglänzendes Krystallpulver von der blauschwarzen Farbe und dem Metallglanze des Hämatin. Die Krystalle sind meist kaum durch die Loupe einzeln erkennbar, sind oft lang gezogene rhombische Plättchen im durchfallenden Lichte von brauner Farbe, völlig unlöslich in Wasser, in heissem Alkohol oder Aether kaum löslich, dagegen wie das Hämatin sehr leicht löslich in Alkalilauge, auch den verdünntesten kohlensauren Alkalien und in säurehaltigem Alkohol. Alle diese Lösungen zeigen das Verhalten der Hämatinlösungen, enthalten auch Hämatin neben Salzsäure. Reibt man Häminkrystalle mit concentrirter Schwefelsäure zusammen, so entwickelt sich Salzsäure. Der Chlorgehalt des Hämin beträgt 5,29 pCt.; beim Auflösen desselben in verdünnten Alkalilaugen verbindet sich das Chlor mit dem Alkalimetall und kann nach Ausfällung des Hämatin mit Salpetersäure durch Silberlösung bestimmt werden; das Hämin ist also eine salzartige oder Ester-Verbindung von Salzsäure mit Hämatin, die in der Eisessiglösung des Blutes bei Gegenwart von Chlornatrium sich bilden und ausfallen kann wegen ihrer Unlöslichkeit in Eisessig. Beim Erhitzen bleiben die Krystalle unverändert bis gegen 200°, an der Luft stärker erhitzt verglimmen sie unter Entwickelung von Blausäure und Hinterlassung eines Skeletts von Eisenoxyd.

Die Häminkrystalle haben nach den Untersuchungen von Hoppe-Seyler[1]) die Zusammensetzung $C_{34}H_{35}N_4FeO_5$, HCl, nach denen von Nencki und Sieber[2]) dagegen $C_{32}H_{30}N_4FeO_3$, HCl; das aus dem Hämin erhaltene Hämatin besteht nach ersteren Untersuchungen aus $C_{34}H_{35}N_4FeO_5$, nach denen von Nencki und Sieber aus $C_{32}H_{32}N_4FeO_4$. Das Verhältniss im Gehalte an N und Fe ist unzweifelhaft richtig; im Uebrigen sind die analytischen Werthe nicht sehr differente.

Hämatoporphyrin.

148. Aus Hämochromogen oder Hämatin oder Hämin können auf verschiedene Weise aber stets unter Einwirkung von Säuren Farbstoffe erhalten werden, die ihre Zusammengehörigkeit durch ihre Zu-

---

1) Med. chem. Untersuchungen Heft 4 S. 528. 1871.

2) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 24 S. 430 u. Monatshefte f. Chem. Bd. 9 S. 115.
Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 17 S. 2267.

sammensetzung, ihr spektroskopisches und chemisches Verhalten und ihren Ursprung erkennen lassen, die jedoch leicht veränderlich sind und von denen sich noch nicht angeben lässt, ob es sich stets nur um einen oder um mehrere einander nahestehende Körper handelt.

Hämochromogen wird bei Abwesenheit von Sauerstoff resp. Anwesenheit von reducirenden Stoffen durch jede auch die schwächste Säure umgewandelt unter Austritt von Eisen als einfaches Ferrosumsalz der angewendeten Säure in Hämatoporphyrin ohne bekannte Nebenproducte; langsamer erfolgt unter sonst gleichen Verhältnissen die Umwandlung des Kohlenoxydhämochromogen. Aus Hämatin oder Häminkrystallen wird Hämatoporphyrin gebildet durch Einwirkung von concentrirter Schwefelsäure und nachheriges Eintragen in Wasser, ferner durch Erhitzen von Häminkrystallen mit rauchender Salzsäure im geschlossenen Glasrohr auf 160° etc. Nencki und Sieber tragen 5 gr trockene Häminkrystalle in Kolben von 300 Cbcm Inhalt in 75 gr Eisessig ein, der bei 10° mit Bromwasserstoff gesättigt ist, erhitzen 20 bis 30 Minuten auf dem Wasserbade, bis kein Bromwasserstoff mehr entweicht, und tragen dann in viel Wasser (5 bis 6 Liter auf 40 bis 50 gr verarbeitetes Hämin) ein. In der tiefrothgefärbten Flüssigkeit scheidet sich ein brauner flockiger Niederschlag ab. Nach einigen Stunden wird filtrirt, das Filtrat mit Natronlauge zur Sättigung des Bromwasserstoffs versetzt, der abgeschiedene Farbstoff durch Decantiren und Filtriren gewonnen, mit Fliesspapier abgetrocknet, noch feucht mit verdünnter Natronlauge auf dem Wasserbade digerirt, die abgeschiedenen Reste von Eisenoxydulsalz abfiltrirt und die warme Lösung stehen gelassen. Beim Abkühlen scheiden sich an den Wandungen kugelige Aggregate der Natriumverbindung des Hämatoporphyrins aus, welche durch Umkrystallisiren gereinigt werden. Die alkalische Lösung der Verbindung wird mit Essigsäure übersättigt, der niedergeschlagene Farbstoff gut mit Wasser gewaschen, dann mit wenig Wasser zum dicken Brei angerührt, durch vorsichtigen Salzsäurezusatz gelöst und die filtrirte tiefrothe Lösung im Vacuum über Schwefelsäure verdunstet. Der grösste Theil des salzsauren Hämatoporphyrins scheidet sich in braunrothen mikroskopischen Nadeln aus. Zur Reinigung wird dies Salz mit wenig 10 procentiger Salzsäure gewaschen, in wenig auf 30° erwärmtem Wasser unter Zusatz von etwas HCl gelöst, die filtrirte Lösung mit nicht zu starkem Ueberschuss von Salzsäure von 1,12 spec. Gewicht versetzt und im Vacuum über Schwefelsäure verdampft. Es krystallisirt reines Salz aus. Dasselbe wird nochmals mit 10 procentiger Salzsäure gewaschen und im Vacuum über Schwefelsäure und Natronkalk getrocknet. Aus verdünnt saurer Lösung desselben wird das freie Hämatoporphyrin durch essigsaures Natron gefällt, braunrother

flockiger Niederschlag. Zusammensetzung $C_{16} H_{18} N_2 O_3$ und die der salzsauren Verbindung $C_{16} H_{18} N_2 O_3$, HCl. Die von Hoppe-Seyler*) gefundene Zusammensetzung des Hämatoporphyrins beträgt $C_{34} H_{36} N_4 O_6$, der auch das dargestellte saure phosphorsaure Salz entsprach. Nach den Bestimmungen von Nencki und Sieber ist die Zusammensetzung des Hämatoporphyrin procentisch gleich der des Bilirubin (vergl. § 150).

Hämatoporphyrin ist in Wasser unlöslich, wenig löslich in verdünnten, leichter in starken Säuren, leicht in verdünnten oder starken Alkalilösungen löslich. In sauren oder alkalischen alkoholischen Lösungen ist es besser löslich. Die sauren Lösungen zeigen schöne violette, concentrirter kirschrothe Farbe und bei spektroskopischer Prüfung einen schmalen nicht sehr dunklen Absorptionsstreif zwischen C und D, dicht an D anliegend und einen breiteren dunklen Streifen zwischen D und E, näher an D als an E. Die alkalischen Lösungen sehen zum Theil auch violett, zum Theil feurig roth bis braun aus; die braune Farbe findet man am häufigsten, sie entspricht aber wohl nicht den reinsten Lösungen. Spektroskopisch sind die alkalischen Lösungen ausgezeichnet durch 4 oder bei passender Concentration 5 Absorptionsstreifen, von denen der erste zwischen C und D nahe an D, der zweite und dritte zwischen D und E, jeder einer dieser Linien nahe, der vierte von b bis F. diese beiden Linien an den Rändern einschliessend gelegen ist. Das saure und das alkalische Hämatoporphyrinspectrum sind in der Spectraltafel in § 191 dargestellt.

Hämatoporphyrin findet sich im Magen- und Darminhalt bei Vergiftung durch Einführung von concentrirter Schwefelsäure in den Magen und kann spektroskopisch sofort erkannt werden. Im Harne sind in nicht wenigen Fällen dem Hämatoporphyrin sehr ähnliche oder damit identische Farbstoffe gefunden (vergl. unten Harn).

Braune und schwarze Pigmente, Melanin.

149. Mehr oder weniger dunkle braune bis ganz schwarze Pigmente finden sich in der Chorioidea und Uvea des Auges, dem Rete Malpighii vieler Thiere und des Menschen, besonders bei Negern, in den Haaren und Federn, der Haut von Reptilien und Fischen, dem Horne, Fischbein, in den Pigmentzellen an serösen Häuten bei Fröschen, Schlangen u. s. w. Fast bei allen erwachsenen Menschen findet sich mehr oder weniger reichlich ein schwarzer Farbstoff in Lungen und Bronchialdrüsen, und meist zeigt er sich bei Sectionen in denjenigen Organen als schiefergraue Färbung, welche von diesen Organen Lymphe em-

*) a. a. O. S. 533 u. 540.

pfangen. In melanotischen Carcinomen finden sich schwarze Pigmente oft in grossen Massen abgelagert. Für sehr viele dieser Pigmente ist der genetische Zusammenhang mit dem Hämatin und Hämoglobin unzweifelhaft aber nur aus anatomischen Gründen, für andere ist er durchaus nicht nachzuweisen und chemisch ist er in keiner Weise bis jetzt zu erklären.

Diese sämmtlichen Pigmente sind amorph, bilden kleinere oder grössere Körnchen. Sie sind unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, ebenso in Säuren. Nur die braunen Farbstoffe lösen sich theilweise oder ganz in Kalilauge beim Kochen, die schwarzen bleiben meist ungelöst, sind aber so feinkörnig, dass es schwer ist, sie durch Filtration zu gewinnen.

Die Pigmente der Augen, der Haut, der melanotischen Carcinome, der Haare, Federn, Fischbein u. s. w. werden schnell zerstört, wenn sie in Alkalilauge gelöst oder suspendirt mit Chlor behandelt werden, in den Lungen und Bronchialdrüsen von Menschen findet sich dagegen zuweilen ein Körper, der bei völlig schwarzer Farbe und Unlöslichkeit in Kalilauge von Chlor nicht angegriffen wird, also wohl Kohle ist, da man diese Eigenschaft fast an keinem anderen organischen Körper kennt. Dieser Stoff ist in sehr feinen Körnchen in diesen Geweben eingelagert, doch finden sich zuweilen in den Lungen Splitter von Holzkohle, welche durch die Respiration dahin gelangt sind und welche durch das Mikroskop gut unterschieden werden können. Concentrirte Salpetersäure greift die schwarzen Pigmente meist sehr langsam an.

Ihre Zusammensetzung wurde sehr verschieden gefunden. Die analysirten Substanzen scheinen meist sehr unrein gewesen zu sein. Nicht selten ist Eisengehalt angegeben.

Ablagerungen von gelbbrauner Farbe bestehend aus Ferrihydrat mit Calciumphosphat und Carbonat kommen pathologisch sehr reichlich vor in der Leber und in den Mesenteriallymphdrüsen und bleiben zurück, wenn die zerkleinerte Drüsenmasse zunächst mit viel Wasser kalt extrahirt, dann mit verdünnter Natronlösung erwärmt, abfiltrirt und sorgfältig mit Wasser ausgewaschen wird. Diese Massen lieferten in einem Falle lufttrocken gewogen 69 pCt. Fe_2O_3 neben 11 bis 12 pCt. $Ca_3(PO_4)_2$ und über 5 pCt. $CaCO_3$. Diese Eisenablagerungen können nicht wohl aus zersetztem Blutfarbstoff herrühren; sie können in einem Menschen mehr Eisen enthalten als das gesammte Blut desselben.

Ueber die dunkelen Farbstoffe der Chorioidea und des Retinaepithels sind Untersuchungen von Rosow angestellt*).

---

*) Rosow, Arch. f. Ophthalmologie. 1863. Bd. 9 Abthl. 3 S. 63.

Unter der Bezeichnung Hippomelanin haben Nencki und Berdez[1]) einen in Alkalilauge schwer löslichen Farbstoff aus melanotischen Geschwülsten von Pferden und unter dem Namen Phymatorhusin einen schwarzen Farbstoff, in Alkalien leichtlöslich, aus Haaren und melanotischen Geschwülsten von Menschen beschrieben. Von Moerner[2]) wurden solche Farbstoffe aus Geschwülsten analysirt, die 55—56 pCt. C, 12 pCt. N, 7,97 pCt. S und 0,06—0,08 pCt. Fe enthielten. Bei allen diesen Farbstoffen fehlt jedoch die Gewissheit, dass reine Körper vorlagen.

Die Pigmente der Avertebraten sind noch wenig untersucht, unter ihnen ist die Sepie der Tintenfische analysirt und von Hosaeus[3]) nach Abzug der Asche von der Zusammensetzung C 44,2, H 3,3, N 9,9, O 42,5 pCt. gefunden. Nach Schwarzenbach[4]) enthält jedoch die Sepie neben Farbstoff noch einen Schleimstoff, und zwar in 100 Thl. trockener Substanz 4,6 pCt. neben 14,7 pCt. Asche und 80,63 pCt. Pigment. Dies letztere ist nach Schwarzenbach unlöslich in Ammoniak und wird von Chlorkalk langsam entfärbt.

Dass diese geschilderten Farbstoffe sehr verschiedener Natur sind, ergiebt sich aus ihrem verschiedenen chemischen Verhalten; die Verschiedenheit der Zusammensetzung kann ihre Ursache in der Differenz der Farbstoffe an sich oder in der Verunreinigung derselben durch andere Stoffe haben.

Hinsichtlich schwarzer Stoffe, die aus dem Harne gewonnen sind, vergl. die Farbstoffe des Harns. Die Unterscheidung der oben genannten Stoffe von den Blut- und Gallenfarbstoffen ist sehr leicht durch ihr so verschiedenes Verhalten gegen die bezeichneten Reagentien; ihre Unterscheidung von Holzkohlen-, Steinkohlen-, Braunkohlenstaub wird zum Theil nur mikroskopisch möglich sein.

Gallenfarbstoffe.

Bilirubin $C_{32}H_{36}N_4O_6$.

150. Das Bilirubin, im Wesentlichen übereinstimmend mit den früher als Cholepyrrhin, Biliphäin bezeichneten Körpern, findet sich am Reichlichsten an Kalk gebunden in den Gallensteinen, in geringer Menge und im freien Zustande auch in der Galle von Menschen, Hunden, Katzen und anderen Fleischfressern, auch bei allen übrigen Vertebraten

[1]) Berdez u. Nencki, Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 20 S. 346. Sieber, ebendas. S. 362.

[2]) Mörner, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11 S. 66 u. Bd. 12 S. 229.

[3]) Arch. d. Pharm. (2) Bd. 120 S. 27. 1861.

[4]) Kopp, Jahresber. über d. Fortschr. d. Chemie 1862. S. 539.

so weit die Galle untersucht ist. Es ist ferner das Bilirubin unzweifelhaft derjenige Körper, welcher die in alten Blutextravasaten in den verschiedenen Körpertheilen aufgefundenen mikroskopischen Hämatoidinkrystalle meistens bildet[1]). Es findet sich ferner Bilirubin zuweilen in Cystenflüssigkeiten, z. B. der Mamma, der Strumacysten, ist auch im icterischen Harne meist nachzuweisen, fehlt endlich wohl nie im Dünndarminhalte, wenn die Gallengänge nicht verstopft sind.

Die Abstammung des Bilirubin von Blutfarbstoff ist nach seinen physiologischen Verhältnissen kaum zu bezweifeln, nach seiner chemischen Zusammensetzung höchst wahrscheinlich, doch ist es künstlich aus demselben noch nicht dargestellt.

Aus Gallensteinen besonders von Rindern wird das Bilirubin nach Staedeler's[2]) Vorschrift erhalten durch Extraction des Pulvers derselben mit Aether, so lange etwas gelöst wird, Ausziehen des Rückstandes erst mit Wasser, dann mit verdünnter Salzsäure, Lösen des ausgewaschenen Rückstandes in heissem Chloroform, Abdestilliren des Chloroform vom filtrirten Auszuge, Behandlung des Rückstandes mit absolutem Alkohol und Aether. Man löst zur Reinigung das so erhaltene Bilirubin wieder in Chloroform, verdunstet bis zur beginnenden Abscheidung des Bilirubin und fällt nun durch Weingeist. Man erhält auf diese Weise das Bilirubin als amorphes orangefarbiges Pulver, dem Schwefelantimon ähnlich in der Farbe.

Aus der Chloroformlösung scheidet sich Bilirubin beim Verdunsten des Lösungsmittels in schöner ausgebildeten rhombischen Tafeln und Prismen ab, wenn die Lösung Cholesterin u. s. w. enthält, als wenn das Bilirubin bereits gereinigt ist. Es ist völlig unlöslich in Wasser, sehr wenig löslich in Aether, etwas löslicher in Alkohol, leichter in Chloroform, besonders beim Erwärmen, weniger in Benzol oder Schwefelkohlenstoff, Amylalkohol, Glycerin; alle diese Lösungen haben gelbe bis bräunlichrothe Farbe. In einer 1,5 cm dicken Schicht ist noch bei 500,000facher Verdünnung gelbliche Färbung zu erkennen. In alkalischen Flüssigkeiten löst es sich leicht auf und wird, so weit es nicht

---

[1]) Staedeler und Holm haben sich entschieden gegen die Identität der Hämatoidinkrystalle und des Bilirubin ausgesprochen, aber gewiss mit Unrecht; freilich finden sich zuweilen in Blutextravasaten Krystalle von rhomboëdrischer Form, welche das Verhalten des Lutein, vergl. § 155, zeigen; dass aber Bilirubin in Blutextravasaten oft sogar reichlich enthalten ist und auch als Hämatoidinkrystalle abgeschieden, davon kann man sich durch die von Staedeler selbst hervorgehobenen Unterscheidungsmerkmale beider Körper gut überzeugen. Hämatoidin ist sonach kein chemischer Begriff.

[2]) G. Staedeler, Ueber die Farbstoffe der Galle. Vierteljahrschr. d. naturf. Gesellsch. in Zürich. Bd. 8. 1863.

zersetzt ist, durch Salzsäure aus diesen Lösungen unverändert wieder abgeschieden. Bilirubin verbindet sich mit Basen: die Natronverbindung kann durch concentrirte Natronlauge aus der concentrirten wässerigen Lösung ausgefällt werden; die Kalkverbindung wird durch Fällung ammoniakalischer Bilirubinlösung mit Chlorcalcium als rostfarbiger flockiger Niederschlag erhalten, der über Schwefelsäure im Vacuum getrocknet metallisch glänzend dunkelgrün erscheint, zerrieben ein dunkelbraunes Pulver darstellt; er besteht aus $(C_{16}H_{17}N_2O_3)_2Ca$. Diese Verbindung ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, Chloroform. Da auch die Alkaliverbindungen in Chloroform unlöslich sind, kann man einer Chloroformlösung das Bilirubin durch verdünnte Alkalilauge entziehen. Ebenso wie durch Chlorcalcium kann man auch durch Chlorbarium, Bleizucker, Bleiessig und salpetersaures Silber eine ammoniakalische Bilirubinlösung fällen; die so erhaltene Silberverbindung bildet bräunlichviolette Flocken. Auch in der Siedhitze wird Silberoxyd durch Bilirubin nicht reducirt.

Ausser diesen Ergebnissen der Untersuchungen von Staedeler sind noch von Maly[1]) und von Thudichum[2]) solche veröffentlicht, von denen die Resultate Maly's Bestätigung der Untersuchungen Staedeler's geben. Die Analysen von Hoppe-Seyler lassen gleichfalls keinen Zweifel an der Richtigkeit der Formel von Staedeler und von Maly.

Vermischt man eine schwach alkalische oder neutrale Lösung von Bilirubin mit nicht zu verdünnter Salpetersäure, die ein wenig Untersalpetersäure enthält (wie dies gewöhnlich der Fall ist), so geht die Farbe der Flüssigkeit zunächst in Grün, dann in Blau, Violett, Roth und endlich in Gelb über. Diese Reaction ist so empfindlich, dass sie bis zur 70000 bis 80000fachen Verdünnung noch erkennbar ist.

Wenn man Bilirubin in alkalischer Lösung auf flachen Tellern der atmosphärischen Luft aussetzt, so wird die Lösung grün durch Bildung von Biliverdin. Durch Einwirkung von Natriumamalgam bildet sich Hydrobilirubin, ebenso wirken Zinn und Salzsäure.

Biliverdin $C_{32}H_{36}N_4O_8$.

151. Nach Staedeler hat Biliverdin die Zusammensetzung $C_{16}H_{20}N_2O_5$, nach Maly[3]) dagegen $C_{32}H_{36}N_4O_8$.

Biliverdin findet sich neben Bilirubin reichlich in den Rändern der Placenta des Hundes, in der Galle vieler Thiere; im icterischen Harne, im Darminhalte und im Erbrochenen.

Um es aus der Placenta des Hundes zu gewinnen, wäscht man

[1]) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 104 S. 28. 1868.
[2]) Ebendas. Bd. 104 S. 193. 1868.
[3]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 175 S. 76.

diese zunächst mit Wasser gut aus, extrahirt dann mit einer Mischung von Chloroform und Alkohol, destillirt das Filtrat, zieht den Rückstand mit kaltem Alkohol aus, filtrirt und verdunstet bei mässiger Wärme zur Trockne.

Aus Bilirubin erhält man Biliverdin nach Staedeler, indem man die alkalische Lösung des ersteren in flachen Gefässen längere Zeit an der Luft stehen lässt, dann mit Salzsäure fällt, mit Wasser wäscht, in Weingeist löst, und die filtrirte alkoholische Lösung verdunstet. Nach Maly erhält man es auch durch Behandlung der Chloroformlösung des Bilirubin mit Eisessig oder durch vorsichtiges Eintragen von Bleihyperoxyd in alkalische Bilirubinlösung, bis eine Probe durch Säure grün gefällt wird; man übersättigt schwach mit Essigsäure, wäscht das ausgefällte Biliverdinblei, zerlegt es durch schwefelsäurehaltigen Alkohol und fällt dann das Biliverdin durch Wasser.

Das Biliverdin ist ein amorpher (beim Verdampfen einer Lösung in Eisessig erhält man unvollkommene grün gefärbte rhombische Plättchen mit abgestumpften Ecken) dunkelgrüner, in Wasser, Aether, Chloroform unlöslicher, in Alkohol leicht löslicher Körper. In selbst sehr verdünnten Alkalilaugen wird es gelöst, durch Kalk-, Baryt-, Bleisalze aus dieser Lösung gefällt, ebenso durch Ansäuern der Lösungen.

Durch Salpetersäure wird das Biliverdin in der alkalischen Lösung ebenso verändert wie das Bilirubin; es geht die Farbe der Lösung in Blau, Violett, Roth, endlich in Gelb über.

In concentrirter Schwefelsäure löst sich Biliverdin mit grüner Farbe und wird durch Wasser wieder unverändert abgeschieden.

Durch schweflige Säure wird alkalische Lösung von Biliverdin besonders schnell beim Erwärmen gelb gefärbt, und diese Lösung verhält sich gegen Salpetersäure der Bilirubinlösung sehr ähnlich. Durch Natriumamalgam oder Zinn und Salzsäure wird aus Biliverdin Hydrobilirubin gebildet.

Es giebt unzweifelhaft noch manche andere Gallenfarbstoffe als die beschriebenen, aber sie sind ungenügend bekannt. Von Scherer[1]) und Staedeler[2]) sind solche kurz beschrieben. Die von Staedeler Bilifuscin und Bilihumin genannten Farbstoffe sind nicht näher bekannt, Brücke's[3]) Bilifuscin ist verschieden von Staedeler's Bilifuscin, aber gleichfalls noch nicht zuverlässig rein gewonnen. Staedeler's Biliprasin ist identisch mit Biliverdin.

Leider zeigen die beschriebenen Gallenfarbstoffe keine so charakteristischen Einwirkungen auf das Licht, dass die Spectraluntersuchung zu ihrer Unterschei-

---

1) Ann. Chem. Pharm. Bd. 53 S. 377.

2) Staedeler a. a. O. vergl. § 150.

3) Brücke, Allgem. Wien. Zeitung 1859 S. 335. Simony, Wien. Acad. Sitzungsber. Bd. 73. III. 18. Mai 1876.

dung wesentlich behülflich sein könnte; dagegen werden sowohl durch Salpetersäure als auch durch Salzsäure aus mehreren Gallenfarbstoffen Körper gebildet, welche sich bei der Spectraluntersuchung durch gut erkennbare Absorptionsstreifen unterscheiden lassen.

Frische Ochsengalle hat eine grüne Farbe und zeigt im Spectrum bei ziemlich bedeutender Dicke der Flüssigkeit einen Absorptionsstreif zwischen D und E näher an D. Lässt man die Ochsengalle stehen oder nach ihrem Eindampfen den Alkoholauszug des Rückstandes derselben, so erscheinen sie in dünnen Schichten bald grün, in dickeren roth und bei der Spectraluntersuchung bei genügender Verdünnung treten 4 Absorptionsstreifen auf, von denen der erste dicht vor C, der zweite nahe vor D, der dritte nahe hinter D, der vierte nahe vor E erscheint. Der zweite und besonders der dritte sind sehr dunkle, gut contourirte Streifen; im Uebrigen ist über diesen Farbstoff, der sich auch in der Schafgalle findet, zwar viel untersucht, aber wenig Bestimmtes ermittelt. Man erhält nämlich diesen Körper auch durch Oxydation von Bilirubin, Biliverdin oder Bilifuscin mit Salpetersäure oder Bromwasser, indem man auf die Chloroformlösung dieser Farbstoffe einwirkt, auch durch Einwirkung von Jod auf alkalischwässerige Lösung der Gallenpigmente wird er gewonnen. Der Farbstoff erscheint grün in alkalischer, blau oder violett in saurer Lösung. Stokvis[1]) hat ihn Choleverdin, Heynsius und Campell[2]) Bilicyanin genannt. Die Spectralerscheinungen waren von Hoppe-Seyler bereits in den früheren Auflagen dieses Handbuchs, dann auch von Jaffé[3]) beschrieben. Auch Bogomoloff[4]) schildert sie.

Das Endproduct der Einwirkung der Oxydationsmittel besonders der rauchenden Salpetersäure auf Bilirubin und Biliverdin ist von Maly[5]) Choletelin genannt und enthält nach seinen Bestimmungen im Mittel C 55,5, H 5,3 pCt.

Nachweis und Trennung der Gallenfarbstoffe.

152. Enthält eine Flüssigkeit neben Gallenfarbstoffen keine bedeutenden Quantitäten anderer Farbstoffe, so kann man Bilirubin und Biliverdin sofort mit Salpetersäure, die etwas salpetrige Säure enthält, nachweisen, indem man in einem Cylinderglas entweder die Salpetersäure bei schräger Haltung unter eine Portion der zu prüfenden Flüssigkeit fliessen lässt, oder zuerst die Salpetersäure eingiesst und die zu prüfende Flüssigkeit darüberfliessen lässt, so dass sie sich nicht zu sehr an der Grenze mischen. Es bildet sich dann die Farbenskala in der Reihenfolge aus, dass unten zunächst an der Salpetersäure gelbrothe, darüber rothe, dann violette, darüber blaue und zuoberst grüne Färbung erkennbar wird, wenn Gallenfarbstoffe vorhanden sind. Mässiger Gehalt an Urobilin im Harne oder von Lutein im Blutserum stören diese Re-

---

[1]) Maandblad v. d. Genootsch. ter bevord van Nat. gen. etc. Amsterdam 1870 S. 10.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 4 S. 497.

[3]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1868 No. 16.

[4]) Ebendas. 1869 S. 529.

[5]) Sitzungsber. d. Wien. Akad. Bd. 59. Centralbl. f. d. med. Wiss. 1873 No. 21.

action nicht erheblich, wohl aber die dunklen Färbungen von Methämoglobin oder Hämatin.

Huppert*) hat mit Recht für den Harn die Fällung mit Kalkmilch empfohlen. Man soll den Niederschlag abfiltriren und im Reagensglas mit Alkohol und Schwefelsäure behandeln, der Alkohol über dem Gypsniederschlag nimmt durch gelöste Gallenfarbstoffe besonders beim Erhitzen gelbgrüne Färbung an.

Der Kalkfällung kann man sich mit grossem Vortheil zur Trennung und zum Nachweis von Gallenfarbstoffen bei Anwesenheit von Blutfarbstoff, Methämoglobin, Urobilin u. s. w. bedienen. Man fällt die Flüssigkeit mit einer mässigen Quantität Kalkmilch unter gutem Schütteln, leitet dann sogleich, um die Zersetzung von Blutfarbstoff oder Methämoglobin durch den Aetzkalk möglichst zu beschränken, einen Strom CO_2 ein, bis der Aetzkalk in Carbonat verwandelt ist, filtrirt und wäscht den Niederschlag mit Wasser. Wünscht man nur den Nachweis der Gallenfarbstoffe zu führen, so lässt man zum Kalkniederschlag auf dem Filter mässig verdünnte, salpetrige Säure enthaltende Salpetersäure fliessen und findet an der Grenze ihrer Einwirkung auf den Kalkniederschlag die oben erwähnte Farbenskala, will man dagegen das Bilirubin abtrennen, so bringt man den Kalkniederschlag in Alkohol, fügt Chloroform hinzu, dann Essigsäure bis zur Uebersättigung des Kalks, filtrirt, versetzt das Filtrat mit Wasser zur Ausfällung des Chloroform, trennt die Chloroformlösung durch Abgiessen und Filtriren durch trocknes Filter und destillirt das Chloroform ab; das Bilirubin bleibt hierbei zurück und kann entweder in Wasser mit einem Tropfen Natronlauge oder in Chloroform gelöst mit Salpetersäure, die salpetrige Säure enthält, nachgewiesen werden. Man kann vorher das Bilirubin mit etwas Alkohol und Aether waschen, trocknen und wägen. Quantitativ genau ist diese Bestimmung nicht, sie giebt meist viel zu niedrige Werthe, weil die Kalkfällung nicht vollkommen ist, auch bei der weiteren Behandlung etwas Bilirubin zersetzt wird. Die ganze Procedur muss so schnell als möglich ausgeführt werden. Hämatin wird aus Flüssigkeiten durch den Kalk wie Bilirubin gefällt und gelangt mit letzterem in die Chloroformlösung. Hämatin findet sich aber im Organismus nicht, höchstens im Magen und Darmcanale.

Farbstoffe des Harns.

153. Der Harn von Menschen, Säugethieren und nackten Amphibien hat stets eine mehr oder weniger dunkle gelbe bis braune Farbe, am

*) Arch. f. Heilk. Bd. 8 S. 351 u. 476.

dunkelsten braun bei Pferden, Rindern und andern pflanzenfressenden Säugern, hellgelb bei Fleischfressern. Es ist nicht bekannt, ob einer oder mehrere Farbstoffe an dieser Färbung betheiligt sind, und die zahlreichen Versuche, welche angestellt sind, um normalen Farbstoff aus dem Harn unverändert zu gewinnen, sind bis jetzt stets ohne Resultat geblieben. Aus zahlreichen, aber durchaus nicht allen normalen und vielen pathologischen Harnen kann Urobilin abgeschieden und seine Anwesenheit im Harn direct durch spectroskopische Untersuchung nachgewiesen werden. Alle Urine, welche reich an Phenol-, Kresol-, Brenzcatechin-, Indoxylschwefelsäure sind, zeigen eine bräunliche, oft sehr dunkle bis fast schwarze Färbung, welche durch Zersetzungsproducte (vielleicht zum Theil humussaure Verbindungen) dieser aromatischen Körper nicht durch letztere an sich farblosen Stoffe hervorgerufen wird. Rhabarber, Sennesblätter, Santonin in den Magen eingeführt, lassen im Harne gelbe Farbstoffe erscheinen, welche sich mit Alkalien schön roth färben.

Urobilin $C_{32}H_{40}N_4O_7$.

154. Urobilin findet sich häufig im normalen menschlichen Harn, gewöhnlich, aber nicht stets im Harn von Fieberkranken, färbt vielfach in solchen Urinen Niederschläge von harnsauren Salzen ziegel- bis fast purpurroth.

Zu seiner Darstellung wird der Harn, wie es zuerst von Méhu*) empfohlen ist, nach Ansäuern mit 2 gr Schwefelsäure für 1 Liter Harn mit Ammoniumsulfat gesättigt und filtrirt, das Urobilin auf dem Filter gesammelt und mit gesättigter Lösung von Ammoniumsulfat gewaschen, dann in Alkohol gelöst. Das Urobilin löst sich langsam und nicht vollständig. Die abfiltrirte alkoholische Lösung wird mit Chloroform gemischt und ein der alkoholischen Lösung gleiches Volumen Wasser hinzugefügt, gut umgeschüttelt und zur Abscheidung der Chloroformlösung stehen gelassen. Mittelst Scheidetrichter wird dann die Chloroformlösung klar abgetrennt, mit dem doppelten Volumen Wasser gewaschen, dann die klare Chloroformlösung aus dem Scheidetrichter durch trocknes doppeltes Papierfilter in einen Kolben filtrirt, das Chloroform abdestillirt. Der Rückstand wird mit Aether gewaschen oder aus concentrirter Chloroformlösung mit Aether gefällt, welcher nur sehr wenig Farbstoff löst. Der Rückstand wieder in Chloroform gelöst, filtrirt und bei mässiger Temperatur verdunstet. Es bleibt bei dieser Behandlung ein Farbstoff zurück, der vom Urobilin verschieden und in Aether oder Chloroform

*) Journ. de pharm. et de chim. Août 1878.

unlöslich ist, von Alkohol mit brauner Farbe leicht gelöst wird. Die Fällung des Urobilin aus dem Harne geschieht auch durch Ammoniumsulfat allein, ohne Anwendung der Schwefelsäure; dies Verfahren ist sogar wegen der grossen Zersetzlichkeit des Urobilin vorzuziehen.

Das auf dem angegebenen Wege dargestellte Urobilin zeigt im durchfallenden Lichte in dünnen Schichten rosenrothe, in dickeren bräunlichpurpurrothe Färbung, im auffallenden Lichte lebhaften gelbgrünen Metallglanz, ähnlich den Rosanilinsalzen, ist aber im durchfallenden Lichte bei Weitem nicht so schön gefärbt. Es ist bis jetzt nur amorph erhalten, löst sich wenig in Wasser oder Aether, leicht in Alkohol oder Chloroform, auch in wässerigen Alkalilösungen oder Ammoniak, erscheint in seinen neutralen Lösungen stets roth, aber in alkalischen Lösungen mehr gelb, in sauren rosen- bis bräunlichpurpurroth. Die Lösungen verändern an der Luft mehr und mehr ihre Färbung ins Bräunliche unter allmälig fortschreitender Zersetzung des Farbstoffs. Mit der Lösung des Farbstoffs getränkte Papierfilter oder baumwollene, wollene Zeuge geben beim Waschen mit Wasser, Alkohol, Chloroform den Farbstoff nur unvollkommen wieder ab. Durch basisch essigsaures Blei wird der Farbstoff gefällt, theilweise durch Chlorzink oder Zinksulfat und Ammoniak. Die ammoniakalische Lösung zeigt auf Zusatz von etwas Zinksalz eine sehr kräftige, noch bei sehr starker Verdünnung erkennbare grüne Fluorescenz. Im durchfallenden Lichte spectroskopisch untersucht, zeigen sehr verdünnte saure Lösungen einen Absorptionsstreif zwischen den Linien b und F, etwas näher an letzterer Linie, in alkalischen Lösungen ist der Streif schwächer und mehr nach der Liniengruppe b hingerückt. Er ist stärker in der Aetzkali- oder Aetznatronlösung als in Ammoniak, am stärksten in der stark fluorescirenden zinkhaltigen Lösung.

Jaffé[1]), welcher das Urobilin zuerst untersucht und benannt hat, erhielt aus der Galle einen Körper von gleicher Eigenschaft und Maly[2]) stellte durch Einwirkung von Natriumamalgam auf Bilirubin oder Biliverdin einen Farbstoff dar, $C_{32} H_{40} N_4 O_7$, den er Hydrobilirubin genannt hat und dessen Eigenschaften spectroskopisch wie in der procentischen Zusammensetzung mit dem Urobilin Jaffé's übereinstimmen. Auch in dem Inhalt des Dickdarms und untern Theil des Dünndarms sowie in den Fäces findet sich dieser Farbstoff von der Geburt an; im Meconium findet er sich nicht. Das reichliche Auftreten des Urobilin im Harne bei Lebercirrhose und andern icterischen Erkrankungen

---

1) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 47 S. 405.

2) Ann. Chem. Pharm. Bd. 163 S. 77.

(seltener bei catarrhalischem Icterus) spricht für die Entstehung aus Gallenfarbstoff.

Zum Nachweis des Urobilin im Harne dient zunächst die spectroskopische Prüfung desselben nach Zusatz von einigen Tropfen Schwefelsäure. Salkowski[1]) empfiehlt 100 CC. Harn mit 50 CC. reinem Aether sanft durchzuschütteln, den Aether abzugiessen und zu verdunsten, den Rückstand in wenig Alkohol zu lösen und die rosenrothe Lösung spectroskopisch und auf grüne Fluorescenz nach Zusatz von Zinkchlorid und Ammoniak zu prüfen. Dieses Verfahren verdient besonders Anwendung, wenn andere dunkle Farbstoffe die directe Prüfung des Urin selbst behindern. Wegen der geringen Löslichkeit des Urobilin in Aether ist Chloroform dem Aether vorzuziehen; Amylalkohol ist zu vermeiden, weil er mit Säuren leicht selbst einen ähnlichen Farbstoff bildet. Zur genaueren Prüfung ist stets das oben zur Darstellung angegebene Verfahren zu wählen. Aus Darminhalt oder Fäces extrahirt man mit Alkohol und einigen Tropfen Schwefelsäure, filtrirt, fügt Chloroform hinzu, dann Wasser und untersucht die abgeschiedene Chloroformlösung auf Absorptionsstreif und Fluorescenz in angegebener Weise.

Baumstark[2]) hat in einem Falle von Lepra zwei Harnfarbstoffe gefunden, von denen der eine, Urorubrohämatin genannt ($C_{68}H_{94}N_8 Fe_2O_{26}$), in saurer Lösung einen Absorptionsstreifen vor der Linie D im Spectrum und einen zweiten hinter D zeigte, sich weder in Wasser, noch in Alkohol, Aether, Chloroform löste, wohl aber mit Alkalien eine schön braunrothe nicht dichroitische Lösung gab. Der andere Farbstoff, Urofuscohämatin genannt, $C_{68}N_{106}N_8O_{26}$, löslich in Alkalien, mit brauner Farbe ohne Dichroismus und ohne scharfe optische Charaktere. Beide Farbstoffe scheinen in naher Beziehung zum Hämatin zu stehen.

Von Mac Munn, Neusser, Russel, Stokvis, Salkowski[3]), Hammarsten[4]), Jolles[5]) u. A. sind in menschlichen Harnen unter dem Einfluss von Krankheiten oder nach Arzneimitteln Farbstoffe gefunden, welche nach dem spectroskopischen Verhalten als Hämatoporphyrine angesehen werden konnten. Vielfach wurde beobachtet, dass diese Absorptionserscheinungen des Hämatoporphyrins sich erst einstellten nach dem Stehen an der Luft oder nach Behandlung mit Säuren etc. Da Hämochromogen mit selbst schwachen Säuren Hämatoporphyrin liefert, kann eine vorausgegangene Spaltung des Hämoglobin die Ursache dieser Er-

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 134.
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1874 Bd. 7 S. 1170.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15 S. 286. 1891.
[4]) Skandinav. Arch. f. Physiol. Bd. 3 S. 319. 1891.
[5]) Internation. klin. Rundschau Wien No. 49 u. 50. 1891.

scheinungen sein. Gute Uebereinstimmung im chemischen Verhalten, gegen Lösungsmittel und in den Absorptionen hat sich nicht gefunden und die Ursachen der Bildung dieser Farbstoffe ist noch unbekannt.

Blaue Farbstoffe, krystallisirte oder amorphe, welche als Niederschläge im Harne häufig beobachtet wurden, sind ohne Zweifel stets Indigo gewesen.

Einen Körper, welcher neben Urobilin die Harnsäuresedimente bei Digestionsstörungen, Herz-, Lungen- und besonders rheumatischen Affectionen oft lebhaft ziegelroth bis rosenroth färbt, hatte Prout theils für Murexid gehalten, theils als rosige Säure bezeichnet; Golding Bird hat diesen Körper Purpurin, Heller Uroerythrin genannt, wenigstens scheint es, dass die genannten Autoren denselben Farbstoff mit diesen Namen bezeichnen. Dieser Farbstoff wird durch verdünnte Säuren nicht angegriffen, durch Natronlauge grün gefärbt, durch Alkalien leicht gelöst, durch essigsaures Blei aus seinen Lösungen gefällt.

Ob die von Thudichum[1]) untersuchten und beschriebenen amorphen Stoffe, Uromelanin $C_{36}H_{43}N_7O_{10}$, Paramelanin, Omicholin, Omicholinsäure u. s. w. reine Körper und wirkliche Zersetzungsproducte vom Harnfarbstoff sind, bedarf noch weiterer Untersuchung.

Lutein.

155. Der Farbstoff des Eidotter und der Corpora lutea wurde von Holm und Staedeler[2]) als identisch durch seine Reactionen erwiesen, aus letzteren auch krystallisirt erhalten, aber noch nicht in der zur Analyse hinreichenden Quantität rein dargestellt. Holm und Staedeler identificiren ferner mit diesem Körper die in alten Blutextravasaten so häufigen Hämatoidinkrystalle und nennen daher diesen gelben Farbstoff Hämatoidin. Da einerseits diese Krystalle nachweisbar meistens aus Bilirubin (vergl. § 150) bestehen, so scheint dieser Name nicht passend, und seitdem Thudichum[3]) wegen des Spectralverhaltens es für wahrscheinlich erklärt hat, dass die gelben Farbstoffe vieler Pflanzen, z. B. in den Maiskörnern, vielen Staubfäden und Blüthen identisch seien mit jenem Farbstoffe, möchte der von Thudichum gewählte Name Lutein vorläufig vorzuziehen sein. Weitere Untersuchungen müssen über die Identität oder Verschiedenheit dieser Körper entscheiden; ist aber das Lutein in verschiedenen Pflanzentheilen vorhanden, so möchte die von Staedeler versuchte Ableitung dieses Körpers vom Blutfarbstoff mindestens sehr problematisch erscheinen.

---

1) Thudichum, Journ. f. prakt. Chem. 1868. Bd. 104 S. 257.
2) Journ. f. prakt. Chem. 1867 Bd. 100 S. 142.
3) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1869 No. 1.

Nach Staedeler und Holm gewinnt man das Lutein aus den Corpora lutea der Kuh durch Extrahiren der fein zerkleinerten gelben Massen mit Chloroform, Verdunstenlassen der orangefarbigen Lösung bei gewöhnlicher Temperatur und Waschen der in dem zurückbleibenden Fette enthaltenen Krystalle mit Weingeist und mit wenig Aether. Die Krystalle des Lutein sind schwach pleochromatisch, im gereinigten Zustande in der Färbung der Chromsäure ähnlich. Sie sind stets mikroskopische, spitze Rhomboëder, meist dünne rhombische Plättchen. In Wasser ist Lutein unlöslich, wenig löslich in Eiweisslösungen, leicht löslich in Alkohol, Aether, Chloroform, Benzol, fetten Oelen. Da man noch keine Methode der Trennung des Lutein von den Fetten kennt, ist es noch nicht aus Eidotter, Blutserum u. s. w. rein dargestellt; in wässerigen Seifenlösungen löst es sich leicht und fällt beim Zusatz einer Säure vollständig, beim Zusatz von Chlorcalciumlösung grösstentheils mit den fetten Säuren zusammen nieder. Durch essigsaures Quecksilberoxyd wird es vollständig gefällt. Durch Sonnenlicht wird Lutein schnell unter Entfärbung zersetzt, durch Salpetersäure blau gefärbt und bei weiterer Einwirkung entfärbt. Durch dies Verhalten gegen Salpetersäure ist das Lutein von den Gallenfarbstoffen und anderen gelben oder orangefarbigen Pigmenten gut zu unterscheiden, da es mit Salpetersäure übergossen erst grün, dann blau, zuletzt gelb oder farblos wird. Auch andere stärkere Säuren, selbst starke Essigsäure färben es grün oder blau. Kochen mit mässig verdünnten Alkalilaugen scheint es nicht zu verändern.

Die Lösungen des Lutein absorbiren sehr kräftig blaues und violettes Licht; verdünnt man eine Luteinlösung mit Alkohol oder Aether mehr und mehr, während man sie mit dem Spectroskope untersucht, so zeigen sich bald zwei deutliche Absorptionsstreifen, von denen der eine die Linie F in sich fasst, aber weiter nach G als nach b hinreicht, der zweite ungefähr die Mitte zwischen F und G einnimmt. Wie Thudichum fand, variiren die Absorptionsstreifen hinsichtlich ihrer Lage im Spectrum etwas je nach dem Lösungsmittel.

Als Unterschied von Bilirubin kann es dienen, dass Lutein der Chloroformlösung durch verdünnte Aetzalkalilösung in Wasser nicht entzogen wird, während Bilirubin die Chloroformlösung verlässt.

Durch eine Untersuchung der Eier von Maja squinado (Seespinne) glaubt Maly*) nachgewiesen zu haben, dass das Lutein eigentlich ein Gemenge von zwei Farbstoffen, die er Vitellolutein und Vitellorubin nennt, darstelle. Da jedoch diese Farbstoffe weder einigermassen isolirt,

*) Monatshefte f. Chem. Bd. 2 S. 18. Jahresber. f. Thierchemie 1881 S. 126.

noch spectroskopisch als verschieden nachgewiesen sind, vielmehr aus der ganzen Darstellungsweise hervorgeht, dass sie noch mit fetten Säuren oder deren Verbindungen verunreinigt waren, Analysen auch nicht angestellt sind, nur Stickstoff in den Extracten nicht gefunden ist, können diese Angaben an der Sachlage nichts Wesentliches ändern. Es sind verschiedene ältere Angaben vorhanden, welche einen rothen neben einem gelben Farbstoff in den Eidottern wahrscheinlich machen, aber so sehr auch dies aller Wahrscheinlichkeit nach der Fall ist, konnte doch eine Isolirung noch nicht erreicht werden.

Unter dem Sammelnamen Lipochrome hat man in neuerer Zeit eine nicht geringe Zahl unvollkommen bekannter und nicht rein dargestellter Farbstoffe zusammen begriffen, die das gemeinsam haben, dass sie in Fetten, Aether, Alkohol, Benzol, Chloroform, auch in wässerigen Seifenlösungen löslich, aber auf keine bis jetzt bekannte Weise frei von Fetten oder Seifen erhalten werden können. Ausser den Luteinen gehören ihnen das Vitellorubin von Maly, das Tetronerythrin und eine Reihe von Farbstoffen an, welche Krukenberg in Schwämmen und in anderen niedern Organismen gefunden hat.

Ueber die Farbstoffe der Netzhaut im Auge sind von Kühne und mehreren seiner Schüler Untersuchungen beschrieben, welche die Lösungsverhältnisse und die wenig charakteristischen Lichtabsorptionen im Wesentlichen betreffen. Es kann hier nur auf die Originalabhandlungen verwiesen werden.[1])

Tetronerythrin.

Auerhähne, Hasel- und Birkhähne, Fasanen sind durch eine eigenthümliche stark rothgefärbte runzlige Partie in der Umgebung ihrer Augen „die Rosen" ausgezeichnet, in denen ein eigenthümlicher orangerother, leicht veränderlicher Farbstoff enthalten ist, der durch Alkohol, Chloroform, Aether, Schwefelkohlenstoff u. s. w. extrahirt werden kann. Wurm[2]) hat zuerst die Untersuchung dieses Farbstoffs vorgenommen, ihn aber nicht krystallisirt erhalten. Hoppe-Seyler war bei der Untersuchung einer grossen Anzahl der Rosen nicht glücklicher. Neben dem Farbstoff wurden durch die genannten Lösungsmittel Fette, Cholesterin und Lecithin extrahirt und es gelang nicht, den Farbstoff von diesen Körpern zu trennen. Bei der Verseifung durch Kochen mit Barytlösung wird der Farbstoff nicht zerstört, doch bleibt derselbe in der Seife, auch wenn die gekochte Seife nachher mit Aether behandelt wird. Am Lichte verblassen die Farbstofflösungen sehr schnell und sind äusserst empfindlich gegen Ozon, so dass ozonhaltiger Aether oder Alkohol den Farbstoff bald entfärben.

Bei der Spectraluntersuchung zeigen die Lösungen des Tetronerythrin starke Absorption von violettem und blauem Licht, auch die Gegend des Blaugrün wird

---

[1]) W. Kühne, Untersuch. a. d. physiol. Institut d. Univers. Heidelberg. Bd. 1—4 zahlreiche Abhandlungen. L. Hermann, Handb. d. Physiologie Bd. 3 S. 235.

[2]) Zeitschr. f. wiss. Zoologie 1871 S. 535.

stark absorbirt, ein definirbares Absorptionsband wurde nicht beobachtet. Säuren verändern den Farbstoff so wenig als Alkalien, gefärbte Niederschläge werden mit schweren Metallsalzen nicht erhalten, wenn nicht der Farbstoff durch Fette u. s. w. niedergerissen wird. Der Farbstoff ist weder eisen- noch kupferhaltig.

Einen mit dem Tetronerythrin identischen oder ihm sehr ähnlichen Farbstoff fand Krukenberg[1]) in mehreren Arten von Schwämmen.

Turacin ist ein Farbstoff von Church genannt, den er aus den Flügelfedern von vier Species von Turaco mit verdünnten Alkalien extrahirt und mit Säuren aus dieser Lösung gefällt hat. Dieser Farbstoff ist nach Church durch zwei deutliche Absorptionsstreifen im Grün und Gelb und durch den Gehalt von 5,9 pCt. Kupfer ausgezeichnet[2]).

Blauer Farbstoff des Eiters, Pyocyanin $C_{14}H_{14}N_2O$.

156. Eine Blaufärbung des Eiters in Wunden ist häufig beobachtet. Sie rührt nach Luecke[3]) von der Gegenwart eines bac. pyocyaneus genannten Mikroorganismus her. Zur Darstellung des von Fordos Pyocyanin genannten Farbstoffes aus blauem Eiter empfiehlt Luecke: Die blauen Compressen, Charpie u. s. w. 24 Stunden in dünnem Weingeist zu maceriren, die meist grün gefärbte Flüssigkeit dann zu filtriren und den Alkohol schnell grösstentheils abzudestilliren. Der Rückstand noch warm filtrirt giebt ein klares grünes Filtrat; dies wird im Kolben mit wenig Chloroform geschüttelt, welches mit verschiedenen anderen Körpern auch den blauen Farbstoff aufnimmt. Man versetzt die klar abgehobene Chloroformlösung unter Umrühren tropfenweise mit sehr verdünnter Schwefelsäure, bis sie völlig roth erscheint. Es scheidet sich dann eine schöne rothe wässerige Schicht über dem Chloroform ab, die man abhebt, im Becherglase auf dem Wasserbade erwärmt und dann Aetzbarytlösung so lange zusetzt, bis die Flüssigkeit wieder blau erscheint, filtrirt dann, wäscht mit Wasser. Die vereinigten Filtrate werden mit wenig Chloroform geschüttelt und die klar abgetrennte blaue Chloroformlösung an der Luft verdunsten gelassen. Ledderhose[4]) erhielt Pyocyanin in grösseren Mengen durch Ausschütteln der Reinkulturen des bac. pyocyan. mit Chloroform.

---

[1]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1879 S. 705.

[2]) Zahlreiche Angaben über Farbstoffe von Avertebraten vergl. in Moseley, London Med. Record. 1877 p. 58. de Negri, Gaz. chim. italian. Vol. 7 fasc. 4 p. 219, Vol. 5 fasc. 8 p. 437. A. e G. de Negri, Studi spettroscopici e chimici sulle materie coloranti di alcuni moluschi del mare Ligure etc. Atti della R. Università di Genova Vol. 3 Genova 1875.

Krukenberg, Vergleichende physiol. Studien 5. Abth. Heidelberg 1881.

[3]) Langenbeck, Arch. f. Chirurgie III. S. 135. Hier findet sich auch die übrige ältere bezügliche Literatur.

[4]) Deutsch. Zeitschr. f. Chirurg. Bd. 28 S. 201.

Pyocyanin zeigt keine deutlichen Absorptionsstreifen, aber schwefelsaures Pyocyanin absorbirt sehr stark das Licht von D bis F im Spectrum. Pyocyanin krystallisirt in mikroskopischen Nadeln oder durch rechtwinkelige Kanten begrenzten Blättchen. Die Krystalle sind luftbeständig, schmelzen beim Erhitzen und zersetzen sich. Sie lösen sich leicht in Chloroform, Alkohol, Wasser, schwerer in Aether. Pyocyanin bildet mit Pikrinsäure und mit Platinchlorid krystallisirende Verbindungen (Ledderhose). Durch Säuren wird das Pyocyanin roth gefärbt wie Lackmus, durch Alkalien wieder blau. Aus der alkoholischen oder wässerigen Lösung wird es durch Alaun oder essigsaures Bleioxyd nicht gefällt. Durch Chlor, rauchende Salpetersäure, Terpentinöl wird es zerstört. Starke Säuren verändern es beim Erwärmen. In verdünnten Säuren gelöst ist es ziemlich beständig, während es besonders in unreiner wässeriger oder alkoholischer Lösung, auch unreinem Chloroform sich bald zerlegt. Es geht leicht über in einen Pyoxanthose von Fordos [1]) genannten gelben Farbstoff, der in Wasser wenig, in Aether, Chloroform, Alkohol leicht löslich ist und in mikroskopischen Nadeln krystallisirt. Schüttelt man die Chloroformlösung mit wässeriger Alkalilösung, so geht der Farbstoff in diese über unter Violettfärbung.[2])

Albuminstoffe oder Proteïnkörper.

157. Die Albuminstoffe bilden bei Menschen und Thieren in Blut, Muskeln, Nerven, Drüsen und anderen Organen und Flüssigkeiten die Hauptmasse der festen Stoffe. Frei oder nahezu frei von Albuminstoffen sind im normalen Zustande Harn, Schweiss, Thränen; auch andere wirkliche Secrete enthalten selten mehr als Spuren davon.

In der procentischen Zusammensetzung unterscheiden sich die Albuminstoffe zum Theil nicht unerheblich, doch liegen die gefundenen Werthe innerhalb der Grenzen:

C	50	bis	55	pCt.
H	6,5	„	7,3	„
N	15	„	18,0	„
O	20	„	23,5	„
S	0,3	„	2,2	„

Bei den gewöhnlichen Darstellungsweisen werden die Proteïnkörper als amorphe Niederschläge oder Lösungsrückstände gewonnen, doch ist es auch auf verschiedenen Wegen geglückt, bestimmte Albuminstoffe in

[1]) Compt. rend. T. 56 p. 1128.

[2]) Girard, Zeitschr. f. Chirurgie Bd. 7 S. 389.

Krystallen künstlich darzustellen.[1]) Die Lösungen der sämmtlichen Albuminstoffe zeigen linksseitige Circumpolarisation. Die Moleculargewichte der Albuminstoffe sind noch nicht mit Sicherheit ermittelt, weil sie theils überhaupt keine Verbindungen ohne Zersetzung einzugehen scheinen, zum Theil in verschiedenen Verhältnissen mit Säuren oder Metallen in Verbindung treten, beim Erhitzen leicht Zersetzung erleiden.

Nur wenige Albuminstoffe sind reichlich in Wasser löslich, alle lösen sich in Aetzalkalilaugen, zum Theil unter Zersetzung, ebenso in concentrirten Mineralsäuren, schwerer oder gar nicht in Essigsäure. Alle sind unlöslich in Aether, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol, Petroläther; in Alkohol lösen sich wenige in geringer Menge und dann in heissem Alkohol leichter als in kaltem.

Aus neutralen oder sauren Lösungen werden alle Albuminstoffe gefällt durch basisches Bleiacetat bei Vermeidung eines Ueberschusses oder Zusatz von NH_3.

Aus saurer Lösung werden alle Albuminstoffe gefällt durch 1) Phosphorwolframsäure, 2) Jodquecksilberjodkalium, 3) Gerbsäure.

Aus schwach alkalischen Lösungen werden alle Albuminstoffe gefällt durch Quecksilbchlorid oder andere Mercurisalze. Keine dieser Fällungen ist für die Albuminstoffe characteristisch.

Zersetzungen der Albuminstoffe.

158. Beim Kochen mit Säuren, z. B. rauchender Salzsäure (zweckmässig ist der Zusatz von Zinnchlorür) werden alle Albuminstoffe zerlegt[2]) in NH_3, CO_2, Leucin, Tyrosin, Asparaginsäure, Glutaminsäure, Lysin und Lysatinin[3]), Diamidoessigsäure.[4]) Glycocoll entsteht hierbei so wenig als Indol oder Skatol. Beim Kochen mit Alkalilaugen oder Erhitzen mit gesättigter Aetzbarytlösung auf 100—150° bilden sich NH_3, CO_2, SH_2, Oxalsäure, Leucin, Tyrosin, Lysin, Lysatinin. Auch

---

[1]) A. Böttcher, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 32 S. 525.
Maschke, Journ. f. pract. Chem. Bd. 74 S. 436.
Schmiedeberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1 S. 205.
Drechsel, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 19 S. 331.
Schmidt-Mülheim, Jahresber. d. Thierarzneischule Hannover 1879—80.
Grübler, Journ. f. pract. Chem. N. F. Bd. 23 S. 97.
Ritthausen, ebendas. Bd. 23 S. 481.
Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 187.

[2]) Hlasiwetz u. Habermann, Ann. Chem. Pharm. Bd. 169 S. 160.

[3]) Drechsel, Arch. f. Anat. u. Physiol. (Physiol. Abth.) 1891 S. 248.

[4]) Drechsel, Ber. d. sächs. Gesellsch. d. Wiss. 7. März 1892 S. 115.

bei dieser Behandlung entsteht kein Glycocoll, aber eine grosse Reihe anderer von Schützenberger[1]) näher untersuchten Körper.

Bei der Fäulniss der Albuminstoffe entstehen NH_3, CO_2, H_2S Methylmercaptan, Leucin, Tyrosin, Hydroparacumarsäure und die weiteren Zersetzungsproducte derselben, Phenylessigsäure, Phenylpropionsäure, Indol, Skatol, Essigsäure, normale und Isobuttersäure, Bernsteinsäure, Tryptophan.

Bei Einwirkung kräftigen künstlichen Magensaftes in schwach saurer Lösung entstehen langsam Leucin, Tyrosin, Tryptophan, schneller durch Trypsin dieselben Körper neben NH_3, CO_2, Asparaginsäure, Lysin, Lysatinin.

Durch Schmelzen mit Aetzkali erhält man aus den Albuminstoffen NH_3, CO_2, H_2, H_2S, Methylmercaptan, Leucin, Indol, Skatol, Ameisensäure, Oxalsäure.

Beim Erhitzen mit Natronkalk destilliren NH_3, Pyrrol und ähnliche Stoffe über.

Mit hinreichendem Ueberschuss von übermangansaurem Kali in wässeriger Lösung stehen gelassen geben Albuminstoffe zunächst Oxyprotsulfonsäure,[2]) welche den Eiweisstoffen noch zugehört. Bei stärkerer Behandlung mit dem Permanganat wird etwas Guanidin gebildet.

Destillation mit chromsaurem Kali oder Braunstein und Schwefelsäure bildet aus den Eiweissstoffen verschiedene fette, flüchtige Säuren, Aldehyde, Nitrile, Bittermandelöl, CO_2.

Unterchlorigsaures Salz zersetzt unter Entwickelung von N_2, CO_2 und reichlicher Oxalsäurebildung. Königswasser bildet Oxalsäure, Fumarsäure, Chlorazol.

Reactionen der Albuminstoffe.

159. Wenn es sich darum handelt zu bestimmen, ob eine Flüssigkeit Albuminstoffe enthält, ohne Rücksicht auf die Unterscheidung der einzelnen Proteinkörper von einander, ist es zweckmässig, eine oder besser mehrere der folgenden Proben anzustellen.

1. Man erhitzt im Probirglase eine Probe derselben zum Sieden und fügt dann Salpetersäure bis zur stark sauren Reaction hinzu. Ist entweder schon beim Kochen ein Niederschlag entstanden, der nach Zusatz von Salpetersäure unverändert bleibt, oder entsteht ein solcher Niederschlag beim Zusatz von Salpetersäure, so ist die Flüssigkeit albuminhaltig. Entsteht dagegen beim Kochen ein Niederschlag, der auf

[1]) Ann. de chim. et de phys. (5) T. 16 p. 289.

[2]) Maly, Monatshefte für Chemie Bd. 6 S. 107.

Zusatz von Salpetersäure verschwindet, so ist kein Albuminstoff in der Flüssigkeit anzunehmen. Der durch die Säure wieder gelöste Niederschlag besteht vielmehr aus Calciumphospat (menschlicher Harn) oder aus Calciumcarbonat (Harn der Pflanzenfresser). Fügt man wenig Salpetersäure zu der zu prüfenden Flüssigkeit, so können Albuminstoffe ungefällt bleiben.

2. Man säuert eine Probe der zu untersuchenden Flüssigkeit mit Essigsäure oder Salzsäure an und fügt dann einige Tropfen Ferrocyankaliumlösung hinzu; sind Albuminstoffe in der Flüssigkeit, so entsteht ein weisser flockiger Niederschlag. Ist die Flüssigkeit sehr reich an $NaCl$ oder anderen Salzen, so entsteht der Niederschlag erst nach Verdünnen mit Wasser. Spuren von Albuminstoffen geben diesen Niederschlag erst nach einigen Stunden gut erkennbar.

3. Man säuert eine Probe der zu untersuchenden Flüssigkeit mit Essigsäure oder Salzsäure bis zur stark sauren Reaction an, fügt ein der Flüssigkeitsprobe mindestens gleiches Volumen gesättigter Lösung von Natriumsulfat hinzu und erhitzt zum Kochen. Ein entstehender Niederschlag zeigt die Anwesenheit von Albuminstoffen an.

Diese dritte, sehr zuverlässige Prüfungsmethode hat vor der ersten den Vorzug, wenn sie mit Essigsäure angestellt wird, dass durch die Säure und das Salz kein Hinderniss gegeben wird, nach Abfiltriren des Niederschlags im Filtrate auf noch andere organische Körper z. B. Zucker zu prüfen.

4. Man versetzt die Flüssigkeit mit etwas Salzsäure und fügt tropfenweise vorsichtig metaphosphorsaures Natron hinzu. Der Niederschlag ist löslich im Ueberschuss der Säure wie des Metaphosphats. Alle Albuminstoffe mit Ausnahme der Peptone werden durch diese in 1 bis 4 genannten Reagentien gefällt. Ausser ihnen geben noch Niederschläge mit Eiweissstoffen selbst bei sehr grosser Verdünnung: Trichloressigsäure in nicht zu verdünnter Lösung, Pikrinsäure, Anhydrid der Glycerinphosphorsäure, Nucleïnsäuren, Taurocholsäure.

Die erhaltenen Niederschläge sowie sonstige feste oder festweiche Massen können dann durch folgende Farbenreactionen auf Albuminstoffgehalt untersucht werden.

1. Alle Albuminstoffe (mit Ausnahme des Antipepton) geben mit Millon's Reagens (§ 107) im Ueberschuss im Probirglase versetzt und erhitzt purpurrothe Färbung.

2. Sie geben ferner im Probirglase mit Ueberschuss von Natronlauge und sehr wenig verdünnter Kupfersulfatlösung versetzt schon in der Kälte oder nach dem Erhitzen zum Sieden eine purpurrothe Färbung. Tritt dieselbe nicht alsbald ein oder verschwindet sie bald, so ist

noch mehr Kupfersulfat zuzusetzen, ein Ueberschuss aber sorgfältig zu vermeiden, weil bei zu viel Kupferzusatz blaue Färbung eintritt, welche nicht characteristisch ist. (Biuretreaction.)

3. Mit einigen Tropfen starker Salpetersäure versetzt und erhitzt färben sich Albuminstoffe gelb und auf nachherigen Ammoniak- oder Aetznatronzusatz im Ueberschuss orangeroth (Xanthoproteïnreaction).

4. Proteïnkörper im festen Zustande geben bei Behandlung mit molybdänsäurehaltiger Schwefelsäure intensiv blaue Färbung; diese Färbung wird durch verschiedene andere Stoffe leicht verdeckt oder verändert[1]). (Fröhde'sche Reaction.)

5. Alle Albuminstoffe zeigen eine schöne Farbenreaction mit Eisessig und concentrirter Schwefelsäure. Man kocht die zu prüfende Substanz mit einer Mischung von 2 Volum. Eisessig und 1 Volum. concentrirter Schwefelsäure[2]). Die schöne Violettfärbung, welche sich schnell einstellt, erscheint langsam auch bei gewöhnlicher Temperatur. Bei passender Verdünnung der Flüssigkeit zeigt die spectroskopische Prüfung einen Absorptionsstreifen zwischen den Spectrallinien b und F. Die Lösung zeigt auch schwache Fluorescenz. (Adamkiewicz'sche Reaction.)

6. Aehnliche Färbungen giebt mit Eiweissstoffen auch concentrirte Schwefelsäure allein oder nach Zufügen einer Spur Rohrzucker nach der Art der Pettenkofer'schen Probe auf Gallensäuren, doch ist die Methode von Adamkiewicz zuverlässiger, schöner und die Färbung tritt schneller ein.

7. Lösungen von Proteïnkörpern in concentrirter Salzsäure nehmen bei gewöhnlicher Temperatur nach einiger Zeit, beim Erhitzen schneller, verschiedene Färbungen an, unter denen Grün, Blau, Violett besonders deutlich auftreten. Sie gehen schliesslich in braunschwarze Färbung über mit Bildung von Niederschlag.

Da fast jede dieser Farbenreactionen auch mit der einen oder andern Substanz, die nicht den Albuminstoffen zugehört, erfolgen kann, ist für die sichere Erkennung der Albuminstoffe im gegebenen Falle unerlässlich, mehrere dieser Reactionen anzustellen.

Nach den Bestimmungen von Hofmeister[3]) geben die Eiweissstoffe des Blutserums noch erkennbare Fällung oder Trübung, wenn bei

---

[1]) Fröhde, Ann. Chem. Pharm. Bd. 145 S. 376.

[2]) Adamkiewicz, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 8 S. 161.
Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 9 S. 156. Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmacol. Bd. 3 S. 423.
Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie, deutsche Ausgabe 1891 S. 17.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2 S. 288.

Anwendung von Gerbsäure, Phosphorwolframsäure, Jodquecksilberjodkalium, Jodwismuthjodkalium die Lösung noch 1 Thl. Eiweissstoff auf 100 000 Thl. Lösung enthält; Essigsäure und Ferrocyankalium geben erkennbare Trübung nur noch, wenn mindestens 1 Thl. Eiweissstoff in 50 000 Thl. Lösung enthalten ist. Die Fällung durch diese letztgenannten Reagentien bietet aber gegenüber der Gerbsäure, Phosphorwolframsäure etc. den Vortheil, dass die durch sie erhaltenen Niederschläge nach dem Sammeln aus verdünnten Lösungen auf dem Filter mittelst der Biuretreaction, mit dem Millon'schen Reagens und mit Eisessig und Schwefelsäure noch näher geprüft werden können, was bei jenen nicht ohne Gefahr der Täuschungen möglich ist.

Trennung der Albuminstoffe von andern Körpern in Flüssigkeiten.

160. Um eine Flüssigkeit von Albuminstoffen zu befreien, pflegt man dieselbe zu kochen, indem man, falls sie nicht schon saure Reaction besitzt, so lange verdünnte Essigsäure hinzufügt, bis eine gute flockige Gerinnung erreicht ist. Wegen der Löslichkeit der Albuminstoffe in überschüssiger Essigsäure ist es nöthig, im Zusatz der Säure vorsichtig zu verfahren. Giebt eine Probe der dann filtrirten Flüssigkeit mit einem Tropfen Ferrocyankalium keine Trübung, so ist sie sicher frei von Eiweissstoffen mit Ausnahme der durch Essigsäure und Ferrocyankalium nicht fällbaren Peptone. Giebt eine zweite Probe der filtrirten und stark angesäuerten Flüssigkeit auch mit Gerbsäure oder Phosphorwolframsäure keinen Niederschlag, so ist sie auch frei von Pepton.

Fürchtet man den Einfluss hoher Temperatur oder der Säure auf andere in der Lösung befindliche Substanzen, oder enthält die Lösung Acidalbumin, Propepton oder Albuminat oder Caseïn, so ist die angegebene Fällungsmethode unzureichend.

Um aus einer Lösung Albumin, Globuline, Acidalbumin, Caseïn und Albuminate zu entfernen, ist es zweckmässig, Lösung von essigsaurem Eisenoxyd hinzuzufügen (die Lösung darf keine andere freie Säure und auch nur wenig freie Essigsäure enthalten) und so lange im Sieden zu erhalten, bis das Eisenoxyd als basisches Salz ganz ausgefällt ist; die filtrirte Lösung soll eisenfrei sein und kann nur noch Pepton enthalten, wenn genügend Eisenacetat zugesetzt war. Es ist zuweilen zweckmässiger eine Mischung von Eisenchlorid und überschüssigem Natriumacetat zu diesem Behufe anzuwenden.

Hofmeister*) empfiehlt zur völligen Entfernung der Albuminstoffe mit Bleioxydhydrat unter Zusatz von etwas Bleiacetat einige

*) a. a. O.

Minuten zu kochen. An Stelle des Bleihydrats kann auch Zinkoxyd oder Zink- oder Bleicarbonat verwendet werden.

Durch basisches Bleiacetat kann bei vorsichtigem Zusatz, so lange Niederschlag entsteht, und darauffolgendes Hinzufügen von wenigen Tropfen Aetzammoniak vollständige Ausfällung der Eiweissstoffe erreicht werden.

Durch Ammoniumsulfat, bis zur vollständigen Sättigung bei der Siedetemperatur eingetragen, können alle Eiweissstoffe aus neutralen oder sauren Lösungen gefällt werden bis auf Peptone und etwas Deuteroalbumose (vergl. unten diese).

Gerbsäure, Jodquecksilberjodkalium oder Phosphorwolframsäure können in vielen Fällen zur Ausfällung von Eiweissstoffen verwendet werden. Die Lösungen müssen hierbei freie Säure enthalten, und zwar ist bei Anwendung der Gerbsäure schwach essigsaure, bei Jodquecksilberjodkalium mässig salzsaure, bei Phosphorwolframsäure stark essigsaure, oder salzsaure oder schwefelsaure Lösung zu empfehlen.

Die einzelnen Albuminstoffe.

161. Trotz sehr zahlreichen neueren Arbeiten über die Unterscheidung der einzelnen Eiweissstoffe von einander ist man noch nicht dahin gelangt, eine befriedigende systematische Gruppirung dieser Körper nach ihren Eigenschaften zu geben, noch weniger ist man im Stande, die einzelnen Körper, wenn sie in einer Flüssigkeit neben einander enthalten sind, mit Sicherheit von einander zu trennen, doch ist dies in neuerer Zeit wenigstens für eine grössere Zahl derselben in befriedigender Weise gelungen. Besonders wichtig erscheinen die von Drechsel[1]) und von Hammarsten[2]) gegebenen Unterscheidungen.

Synopsis der Albuminstoffe.

I. Albumine, löslich in Wasser in allen Verhältnissen, weder fällbar durch sehr verdünnte Säuren, noch durch verdünnte Alkalicarbonatlösungen, auch nicht durch Magnesiumsulfat, Chlornatrium bis zur Sättigung eingetragen. Durch Erhitzen der Lösung in Wasser allein oder mit neutralen Alkalisalzen oder Salzen der alkalischen Erden werden sie gefällt und zugleich in coagulirte Eiweissstoffe übergeführt. Durch Säuren werden sie langsam in Acidalbumin, durch Aetzalkalien in Albuminate umgewandelt.

---

[1]) Ladenburg, Handwörterbuch der Chemie. Artikel „Eiweisskörper“.

[2]) O. Hammarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie, deutsche Ausgabe, Wiesbaden 1891.

1. Serumalbumin $(\alpha)_D = -62,6^0$ bis $-64,6^0$[1]. Durch Schütteln der wässerigen etwas salzhaltigen Lösung mit Aether nicht coagulirt, in ziemlich salzfreier Lösung durch starken Alkohol ohne Veränderung fällbar, bei Anwesenheit von etwas Salz durch Alkohol coagulirt. In starker Salzsäure leicht löslich unter Umwandlung zu Acidalbumin, welches durch genügenden Wasserzusatz ausgefällt wird. In neutraler, wenig Salz haltiger Lösung beim Erhitzen über 60^0 Trübung, bei 72^0—75^0 Fällung in Flocken von coagulirtem Albuminstoff.

2. Lactalbumin $(\alpha)_D = -37,0^0$[2]) ist abgesehen von der geringeren specifischen Linksdrehung bis jetzt von Serumalbumin nicht zu unterscheiden, zeigt auch dieselbe Gerinnungstemperatur in neutraler Lösung bei geringem Salzgehalt.

3. Eieralbumin $(\alpha)_D = -37,8^0$[3]. Durch Schütteln der wässerigen Lösung mit Aether allmälig fällbar, schwerer löslich in concentrirter Salzsäure. Ziemlich salzfrei, ebenso wie bei Salzgehalt seiner Lösung, durch Alkohol coagulirbar.

II. Globuline sind Albuminstoffe unlöslich in Wasser, löslich in verdünnter Lösung neutraler Salze wie NaCl oder $MgSO_4$. Diese Lösungen werden beim Erhitzen coagulirt, bei gewöhnlicher Temperatur durch Zusatz von Wasser im grossen Ueberschuss gefällt; der Niederschlag wird beim längeren Stehen unter Wasser unlöslich in neutraler Salzlösung. Durch verdünnte Säuren werden sie zu Acidalbumin, durch Aetzalkali zu Albuminaten umgewandelt. Alle Globuline werden durch Sättigung der neutralen Lösung mit $MgSO_4$ bei 30^0 ohne Aenderung ihrer Eigenschaften ausgefällt.

A. Fällbar durch Sättigung der neutralen Salzlösung mit NaCl in Krystallen eingetragen:

1. Myosin. Coagulationstemperatur 55^0, aus todter Muskelsubstanz durch Salzlösungen oder durch sehr verdünnte Salzsäure (höchstens 0,05 pCt. HCl) extrahirt.

2. Fibrinogen, Coagulationstemperatur 55—56^0, giebt mit Fibrinferment und etwas Serumglobulin unter passenden Verhältnissen Fibrin.

3. Fibringlobulin, Coagulationstemperatur 55^0, giebt kein Fibrin, bildet sich vielmehr aus Fibrin bei Pankreas- oder Pepsinverdauung oder durch Fäulniss, ebenso durch Lösen von Fibrin in nicht gesättigten neutralen Salzlösungen, z. B. Salpeter.

---

1) Starke, Jahresber. f. Thierchemie 1881 S. 18.

2) J. Sebelin, ebendas. 1885 S. 184.

3) Starke a. a. O.

4. Serumglobulin, Coagulationstemperatur 72—75°, $(\alpha)_D = -47,8°$*).

B. Durch NaCl in die Lösung bis zur völligen Sättigung eingetragen nicht fällbar:

1. Globulin der Krystalllinse.

2. Vitellin aus dem Dotter der Eier, krystallisirbar.

III. Fibrin, unlöslich in Wasser, elastisch faserig, nur sehr langsam löslich, aber quellend in NaCllösung oder anderen neutralen Salzlösungen, stark quellend in sehr verdünnter Salzsäure, ebenso in verdünnter Sodalösung. Durch Magensaft oder Pancreasaufguss leicht gelöst. Bei dem Erhitzen über 75° zäh und brüchig werdend.

IV. Coagulirte Albuminstoffe, unlöslich in Wasser, Salzlösungen, auch nur wenig in ihnen quellend, durch Sodalösung oder verdünnte Säure kaum gelöst, durch Magensaft oder Pankreasinfus gelöst aber viel langsamer als Fibrin. Durch Jod nicht gefärbt.

V. Amyloid, unlöslich in Wasser, in neutralen Salzlösungen, kohlensauren Alkalilösungen und verdünnten Säuren, auch in denselben nicht besonders quellend, durch Jod braun bis violett gefärbt, durch Magensaft sehr schwer gelöst.

VI. Acidalbumine, unlöslich in Wasser, sowie in neutralen Salzlösungen, frisch gefällt leicht löslich in sehr verdünnter Salzsäure oder Sodalösung, durch Neutralisation unverändert wieder ausgeschieden, unlöslich in kaltem oder heissem Alkohol, aus der Lösung in verdünnten Säuren durch Sättigung mit neutralen Salzen fällbar, durch Aetzalkali schnell in Albuminat übergeführt.

VII. Albuminate oder Albuminsäuren, wenig löslich in Wasser, auch wenig löslich in Alkohol. Die wässerigen Lösungen reagiren sauer; leicht löslich in Sodalösung, auch leicht löslich in verdünnten Lösungen von Mineralsäuren, aus diesen letzteren Lösungen ebenso aus Alkalilösungen durch reichlich zugesetzte neutrale Salze fällbar ohne Aenderung ihrer Eigenschaften.

VIII. Nucleoalbumine geben beim Verdauen mit Magensaft fast unverdauliche Niederschläge von Nucleïn, Leukonucleïn, Paranucleïn. Hierher werden gezählt:

1. Nucleoalbumine (im engeren Sinne, Kossel) aus den Zellkernen.

2. Vitelline aus den Eidottern, vergl. oben II. B. 2.

3. Caseïne aus der Milch.

Die Vitelline verhalten sich im Uebrigen wie Globuline, die Caseïne

*) Fredericq, bei Rindsblut. Arch. de biologie T. 1 p. 17.

dagegen wie Albuminate. Es ist noch nicht entschieden, ob diese Körper Gemenge von Nucleïn mit Globulin (bei den Vitellinen) oder mit Albuminat (Caseïne) darstellen oder bei der Behandlung mit Magensaft eine Spaltung unter Bildung von Paranucleïn erfahren. Vergl. unten § 192.

IX. Gallenmucin, in neutraler Salzlösung auch bei Anwesenheit von Essigsäure zu schleimig fadenziehender Flüssigkeit löslich, bei Abwesenheit von Salzen in Essigsäure unlöslich; durch Aetzalkali leicht in Alkalialbuminat übergeführt.

X. Propeptone oder Albumosen, Umwandlungsproducte der Magen- oder Pankreasverdauung oder der Fäulniss oder der Einwirkung von starken Säuren, oder Aetzalkalien oder des Wassers allein bei sehr hohen Temperaturen. Soweit in Wasser löslich, sind sie alle fällbar durch $(NH_4)_2 SO_4$ bis zur Sättigung eingetragen bei 30° oder höherer Temperatur. Fällbar aus der Lösung bei gewöhnlicher Temperatur durch Salpetersäure oder Essigsäure und Ferrocyankalium. Sie geben mit Natronlauge und etwas Kupfersulfat Rothfärbung auch ohne Erhitzen.

A. In Wasser unlösliche Propeptone:

1. Heteroalbumose, feucht schleimig glasige Masse, löslich in nicht gesättigter NaCl lösung mit alkalischer Reaction, leicht löslich in verdünnter Säure oder Alkalilösung.

2. Dysalbumose, unlöslich in NaCllösung, in 1procentiger Sodalösung löslich, giebt nach Neutralisation der Lösung alle Reactionen der Heteroalbumose.

3. Antialbumid entsteht aus Fibrin oder anderen Eiweissstoffen durch Kochen mit 5procentiger Schwefelsäure. Wird durch Trypsin- oder Pepsinverdauung in Antipepton übergeführt.

B. in Wasser löslich in allen Verhältnissen:

1. Protalbumosen, durch Sättigung der wässerigen Lösungen durch Steinsalz gefällt aber nicht vollständig, wenn nicht zugleich etwas Essigsäure zugefügt wird.

2. Deuteroalbumosen, werden durch NaCl bis zur Sättigung eingetragen bei Gegenwart freier Essigsäure oder Salzsäure gefällt.

3. Atmidalbumose } vergl. Neumeister, Zeitschr. f. Biolog.
4. Atmidalbumin } Bd. 26 S. 57.

XI. Peptone, in jedem Verhältniss in Wasser löslich, nicht fällbar durch Säure und Ferrocyankalium, auch nicht fällbar durch $(NH_4)_2 SO_4$.

1. Amphopeptone, gebildet durch Magenverdauung bei anhaltender Einwirkung, liefern bei der Spaltung Tyrosin und geben schöne Rothfärbung mit Millon's Reagens.

2. Antipeptone, gebildet durch Trypsin und durch dies Enzym nicht weiter verändert, geben die Biuretreaction aber nicht gute Rothfärbung mit Millon's Lösung und liefern bei dem Kochen mit verdünnter Schwefelsäure kein Tyrosin.

Specielle Beschreibung der einzelnen Albuminstoffe.

I. Albumine.

162. 1. Serumalbumin, findet sich reichlich im Blutplasma und Serum, in Lymphe, Chylus, Muskeln, pathologischen Transsudaten und tritt bei Nierenkrankheiten von den Eiweissstoffen meist am Reichlichsten in den Harn über. Es wird reines Serumalbumin gewonnen durch Ausfällen des Blutserum oder pathologischer Transsudate mit gepulvertem Magnesiumsulfat bei 30° bis zur Sättigung eingetragen, Auswaschen des Niederschlags bei dieser Temperatur mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung, Fällen des Filtrats durch Ammoniumsulfat bis zur Sättigung in Substanz eingetragen, Auspressen des Niederschlags, nochmaliges Lösen desselben in Wasser und Ausfällen durch Sättigen mit $(NH_4)_2 SO_4$ bei 40°, Entfernung der Salze aus der Lösung durch sehr anhaltende Dialyse mit grossen Mengen destillirten Wassers, Fällung mit grossem Ueberschuss von starkem Alkohol, Filtriren, Auswaschen mit Alkohol und Austreiben des Alkohols durch Aether[1]).

Nach der Fällung des Serumglobulin mit $Mg SO_4$ kann auch aus dem Filtrat das Serumalbumin durch Zusatz von 1 pCt. Essigsäure gefällt, nach einigen Stunden abfiltrirt, ausgepresst, in wenig Wasser gelöst, neutralisirt und durch Dialyse von Salz befreit werden[2]).

Krystallisirt ist Serumalbumin noch nicht dargestellt.

Die Analysen des Serumalbumin, von Hammarsten und Starke dargestellt aus Hydrocele, aus Pleuratranssudat und aus Pferdeblutserum, haben die procentische Zusammensetzung ergeben:

	C	H	N	S
aus Pleuratranssudat	52,25	6,65	15,88	2,27
„ Pferdeblutserum	53,05	6,85	16,04	1,79

Das möglichst salzfreie Serum auf obige Weise dargestellt, ist klar in Wasser löslich, gerinnt in 1 procentiger Lösung gegen 50°, durch Na Clzusatz wird die Coagulationstemperatur erhöht. In der Mischung

---

1) Jahresber. f. Thierchemie 1881 S. 17.

2) Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 310.

mit Serumglobulin, wie es im Blutserum sich findet, tritt über 60° Trübung und bei 72 bis 75° flockige Fällung ein.

Durch CO_2, Essigsäure und andere in Wasser lösliche fette Säuren, 3basische Phosphorsäure wird das Serumalbumin nicht aus seinen wässerigen Lösungen gefällt und wenn die Temperatur nicht hoch ist, auch die Säure in grosser Verdünnung angewendet wird und ihre Einwirkung nicht zu lange dauert, kann durch vorsichtiges Neutralisiren mit Calciumcarbonat, Soda oder verdünntem Ammoniak eine klare neutrale Lösung von Serumalbumin wieder erhalten werden. Je höher dagegen 1) die Temperatur, 2) je stärker die Concentration der zugesetzten Säure, 3) je grösser ihre relative Quantität ist, desto schneller wird das Serumalbumin in Acidalbumin umgewandelt. Versetzt man eine Lösung von Serumalbumin mit einer geringen Menge einer verdünnten Mineralsäure, so wird es weder gefällt noch sonst verändert; durch grössere Quantität concentrirter Säure wird seine Lösung zunächst unter Steigerung der Circumpolarisation getrübt; es bildet sich beim Neutralisiren ein Niederschlag, der um so reichlicher erscheint, je stärker und je länger dauernd die Einwirkung der Säure war. Durch genügend concentrirte Mineralsäuren kann alsbald Coagulation erfolgen. Am Energischsten wirken in dieser Beziehung Salpetersäure und Metaphosphorsäure. Mit starker Salzsäure entsteht ein Niederschlag, der in Wasser gelöst die spec. Drehung $(\alpha)_D = 78{,}7^0$ gezeigt hat und aus salzsaurem Acidalbumin besteht.

Von verdünntem Ammoniak wird Serumalbumin nur allmälig verändert. Kali- und Natronlauge verwandeln es in wässeriger Lösung unter Steigerung der Circumpolarisation in Albuminat; selbst geringe Mengen Aetzkali haben diese Wirkung. Concentrirte Kali- oder Natronlauge zu concentrirter Serumalbuminlösung gesetzt bringt die Lösung zur Erstarrung als gallertiges Alkalialbuminat. Schon geringe Mengen von Säure reichen hin, Serumalbumin zu fällen, wenn die Lösung mit neutralen Salzen, wie $NaCl$ oder $MgSO_4$ gesättigt ist. Salze schwerer Metalle bilden meist schnell Acidalbumin. Schwach mit Essigsäure versetzte Serumalbuminlösung giebt mit Ferrocyankalium einen Niederschlag, welcher zunächst bei Neutralisation mit Soda Globulinsubstanz, nach kurzem Stehen jedoch Acidalbumin giebt.

2. Lactalbumin wird nach Sebelien*) dargestellt aus Milch oder Colostrum, nach Abscheidung des Caseïn und Globulin durch Sättigung mit Magnesiumsulfat bei 30°, durch Fällung mit Zusatz von 0,5 bis 1 pCt. Essigsäure, Auspressen des abfiltrirten Niederschlags,

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 453.

Lösung in wenig Wasser, genaue Neutralisation mit Na OH, anhaltende Dialyse mit destillirtem Wasser, Eindunsten bei 30 bis 40° in flacher Schale auf kleines Volumen, Fällen und Auswaschen mit starkem Alkohol, zuletzt mit Aether und Trocknen.

Feines weisses Pulver, in Wasser klar löslich, enthält C 52,19; H 7,18; N 15,77; S 1,73 pCt. Das Verhalten des Lactalbumins gegen Säuren, Salze, Alkalien bei gewöhnlicher Temperatur und bei dem Erhitzen der Lösungen stimmt mit dem Serumalbumin überein, aber die spec. Drehung wurde $(\alpha)_D = -36,4^0$ bis $-36,98^0$, also bedeutend geringer gefunden als die des Serumalbumins, welches auf gleichem Wege aus Blutserum gewonnen ist.

163. 3. Eieralbumin (Ovalbumin) aus dem Eiweiss des Hühnereis gewonnen[1]) durch Zerschneiden mit der Scheere, Zerreiben mit Magnesiumsulfat, Mischen mit dem doppelten Volumen $MgSO_4$lösung bei 20°, schnelles Absaugen der Lösung, Fällung derselben durch Sättigung mit Na_2SO_4, Filtration, Auspressen des Niederschlags, Lösung desselben in wenig Wasser, anhaltende Dialyse mit Wasser, Eindampfen der möglichst salzfreien Lösung bei 40 bis 50° auf kleines Volumen und Fällung mit Alkohol, wobei es bald in coagulirtes Eieralbumin übergeht.

Nach Hofmeister[2]) wird Eiereiweiss zu Schaum geschlagen, dann 24 Stunden stehen gelassen, die am Boden angesammelte klare dünnflüssige Eiweisslösung abgegossen und mit dem gleichen Volumen einer neutralen kalt gesättigten Lösung von $(NH_4)_2SO_4$ gemischt, der ziemlich reichliche Niederschlag abfiltrirt und die völlig klare, salzhaltige Flüssigkeit auf grossen flachen Schalen mit ebenem Boden der Verdunstung bei Zimmertemperatur überlassen. Allmälig scheidet sich am Boden und dann an der Oberfläche eine Schicht eines feinkörnigen weissen, gelben oder röthlichen Pulvers oder solcher Krusten ab, bestehend aus einfach brechenden Kugeln oder Kugelaggregaten. Wenn diese Abscheidung sich nicht mehr vermehrt, wird sie abfiltrirt und abgepresst, in halbgesättigter Lösung von $(NH_4)_2SO_4$ gelöst, dann wieder der allmäligen Verdunstung überlassen. Mit der dabei erhaltenen neuen Abscheidung wird abermals so verfahren und das Umkrystallisiren in dieser Weise fortgesetzt, bis neben den Globuliten auch feine mikroskopische Nadeln auftreten, die sich dann vermehren. Dann wird wieder abfiltrirt, ausgepresst, in halbgesättigter Lösung von $(NH_4)_2SO_4$ aufgelöst, die Lösung in einen Schlauch von Pergamentpapier gefüllt und dieser in eine Schale mit halbgesättigter Lösung von $(NH_4)_2SO_4$ eingelegt. Wäh-

---

[1]) Starke a. a. O.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 187.

rend die äussere Lösung sich durch Verdunstung concentrirt, scheidet sich langsam im Schlauch das Albumin in schiefwinklichen Tafeln und Nadeln ab. Die ersten und die letzten Abscheidungen sind weniger rein. Die möglichst gereinigten Krystalle, die für sich in Wasser vollkommen löslich sind, werden in Alkohol gebracht, wobei sie in coagulirtes Eieralbumin übergehen. Das von Starke und Hammarsten analysirte Präparat ergab die Zusammensetzung a, die von Hofmeister dargestellten coagulirten Krystalle bei 100° getrocknet die Zusammensetzung b.

	C	H	N	S	
a)	52,25	6,90	15,25	1,93	pCt.
b)	53,28	7,26	15,00	1,09	„

Die spec. Drehung wurde in 2 bis 6 procentiger Lösung zu $(\alpha)_D = -37,79^0$ von Starke gefunden.

Durch Dialyse gut gereinigtes Eieralbumin verhält sich nach Laptschinsky ebenso wie nicht dialysirtes, zeigt süssen Geschmack und giebt noch 1 pCt. Asche. In starker Salzsäure oder Salpetersäure löst sich Eieralbumin schwieriger als Serumalbumin. Durch starke Kalilauge wird es in genügend concentrirter Lösung zu einer fest gallertigen Masse verwandelt (Lieberkühn'sches Alkalialbuminat). Aus wässeriger Lösung von Eieralbumin erhielt Harnack[1]) mit Kupfersulfat Niederschläge, welche nach genügendem Waschen frei von Schwefelsäure waren und entweder 1,35 oder 2,64 pCt. Kupfer enthielten. Fuchs[2]) und Comaille[3]) erhielten Platinverbindungen mit 8,02 bis 8,1 pCt. Platingehalt.

Durch Einwirkung von Säuren und ebenso von Alkalien wird die spec. Rotation der Lösungen des Eieralbumins erhöht, ohne dass sie jemals die Höhe der spec. Drehung von Lösungen des Serumalbumins erreicht.

II. Globuline.

164. 1. Myosin entsteht bei der Todtenstarre der contractilen Substanz aller Muskeln und wahrscheinlich auch der meisten Protoplasmen mit animalen Eigenschaften. Man erhält nach Danilewsky[4]) das Myosin aus gut zerkleinerten, schnell mit kaltem Wasser sorgfältig ausgewaschenen Muskeln nach zwei verschiedenen Methoden: 1) die Masse wird mit 10 bis 20 procentiger NH_4Cl lösung zusammengerührt, einige Stunden stehen gelassen, erst durch Leinwand, dann durch Papier

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 198.
2) Ann. d. Chem. Bd. 151 S. 372.
3) Moniteur scientif. Octbr. 1866.
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 158.

filtrirt. Man lässt die Lösung in viel Wasser eintropfen, wäscht dann die ausgeschiedenen Gerinnsel mit Wasser gut aus. 2) Die zerkleinerte Muskelsubstanz mit wenig Wasser zerrührt wird in 2 gleiche Theile getheilt, der eine derselben wird mit verdünnter Salzsäure versetzt, bis Tropaeolin OO saure Reaction anzeigt, dann beide Theile gemischt, colirt, filtrirt. Diese Lösung kann ohne Aenderung des Myosins auf 35 ° erwärmt werden. Durch Neutralisation mit Soda oder Kalkwasser wird das Myosin gefällt. Mit Salzsäure neutralisirtes, dann getrocknetes Myosin enthält 3 bis 4 pCt. H Cl. Durch weniger verdünnte Salzsäure wird Myosin in Syntonin übergeführt und zwar geht zur Hälfte mit Salzsäure gesättigtes Myosin bei 40 ° langsam, bei 50 ° schnell in Syntonin über, verliert dabei Calcium, und die das Calcium bindende Quantität Salzsäure reicht hin, aus salzsaurem Myosin noch nicht saures Syntonin zu bilden.

Basen werden von Myosin kaum gebunden, obwohl überschüssiges Alkali leicht Myosin auflöst, aber ohne wesentliche Abnahme der alkalischen Reaction.

Löst man Syntonin (vergl. § 169) in möglichst wenig Kalkwasser, trägt dann trocknes Salmiakpulver fast bis zur Sättigung ein, filtrirt durch Faltenfilter und neutralisirt die alkalische opalisirende dicke Lösung mit sehr verdünnter Essigsäure, bis violettes Lackmus keine alkalische Reaction mehr angiebt, so bleibt die Flüssigkeit klar, schwach opalisirend und verhält sich in allen Reactionen wie eine Salmiaklösung von Myosin. Man kann durch Na Cl, bis zur Sättigung eingetragen, oder durch sehr viel Wasser das Myosin fällen *).

Lässt man Myosin längere Zeit unter Wasser stehen, so verliert es allmälig seine Löslichkeit in sehr verdünnter Salzsäure und quillt nur noch damit, löst sich auch nicht mehr in Kalkwasser. Erwärmt man diese Modification mit 0,1 procentiger Natronlauge auf 35—40°, so erhält man gewöhnliches Syntonin, welches in oben beschriebener Weise in Myosin zurückgeführt werden kann. Wird Myosin mit 50 procentigem Alkohol gekocht und heiss filtrirt, so wird das Filtrat bei der Abkühlung nicht getrübt. Wird es in concentrirter Salzlösung durch Erhitzen coagulirt, so enthält die klare Flüssigkeit nicht wenig Calcium.

165. 2. **Fibrinogen** enthalten alle diejenigen Flüssigkeiten, welche beim ruhigen Stehen bei gewöhnlicher Temperatur von selbst gerinnen unter Bildung von Fibrin, oder zur Gerinnung gebracht werden, wenn man einige Tropfen der aus frischem geronnenen Blute ausgepressten Flüssigkeit zu einer Probe derselben hinzufügt und die

*) **Danilewsky** a. a. O.

Mischung eine Zeit lang stehen lässt. Das Fibrinogen ist eine in albuminhaltigen Flüssigkeiten ziemlich beständige Globulinsubstanz, leicht und vollständig fällbar durch Chlornatrium oder Magnesiumsulfat bis zur Sättigung der Lösung eingetragen. In verdünnten Salzlösungen ist es leicht löslich, aber schon bei 55—56⁰ unter Abscheidung eines fibrinähnlichen Coagulum gerinnend*). Hammarsten fand seine Zusammensetzung zu C 52,93; H 6,90; N 16,66; S 1,25; O 22,26 pCt. Durch Erhitzen bis 58—60⁰ wird das Fibrinogen in 2 Eiweisskörper umgewandelt, von denen der eine sich ausscheidet und unlöslich in Wasser ist, von der Zusammensetzung C 52,46; H 6,84; N 16,93; S 1,24; O 22,53 pCt., während der andere, in der Lösung bleibende, durch Dialyse der Lösung mit viel Wasser von Salz gereinigt nach Fällung mit Alkohol und Waschen damit C 52,84; H 6,92; N 16,25; S 1,03; O 22,96 pCt. enthält. Beide Körper sind etwas sauerstoffreicher als das Fibrinogen, können also Spaltungsproducte sein, für welche auch Hammarsten sie ansieht. Befindet sich in einer Lösung von Fibrinogen zugleich eine hinreichende Quantität Serumalbumin, so kann die Flüssigkeit, z. B. Hydrocele, welche fast immer beide Eiweissstoffe enthält, bis 60⁰ ohne Gerinnung erhitzt werden.

Eine Fibrinogenlösung längere Zeit bei 36—40⁰ erhalten, verliert nach Hammarsten die Fähigkeit mit Fibrinferment versetzt zu gerinnen.

In reinem Zustande kann das Fibrinogen nur schwer erhalten werden. Auf NaClzusatz wird es bereits gefällt, wenn die Lösung 16 pCt. davon enthält, während das gleichzeitig wohl stets vorhandene Serumglobulin bei diesem Salzgehalt nur dann ausfällt, wenn die Lösung sehr reich daran ist. Zu seiner Reindarstellung wird am Besten Fibrinogen mit dem Serumglobulin aus Pferdeblutplasma oder Hydrocele durch Sättigung mit NaCl gefällt, der Niederschlag alsbald in Wasser wieder gelöst und nun fractionirt mit NaCl gefällt; der erste Niederschlag enthält das reinste Fibrinogen.

Gegen Säuren und Alkalien verhält es sich ebenso wie Serumglobulin. Beim Stehen unter Wasser wird es wie dieses bald verändert, löst sich dann nicht wieder in verdünnter Salzlösung und giebt mit Fibrinferment nicht mehr Fibringerinnung.

166. 3. Fibrinoglobulin. Bei der Magenverdauung von ausgewaschenem, nicht erhitzten, auch nicht mit Alkohol behandelten Blutfibrin löst sich dasselbe zunächst unter reichlicher Bildung des bei 55⁰

*) Hammarsten, Jahresber. f. Thierchemie Bd. 6 S. 19. Gerinnung bei 53—56°.
Fredericq, Ann. de la soc. de chimie de Gand 1877. Bull. de l'Acad. de Belgique Sér. 2 T. 64 No. 7. Gerinnung bei 54—57°, meist bei 55—56°.

gerinnenden Fibrinoglobulin neben einer geringen Quantität von Serumglobulin. Dasselbe Fibrinoglobulin bildet sich zunächst bei der Behandlung des Fibrins mit Pankreasinfus. Mit dem Fibrinogen stimmt dies Fibringlobulin in allen Reactionen überein, nur liefert letzteres bei der Behandlung in wässeriger etwas salzhaltiger Lösung mit Fibrinferment und etwas Serumglobulin kein Fibrin*).

4. Serumglobulin, Blutcaseïn, Paraglobulin, fibrinoplastische Substanz sind Namen derselben Globulinsubstanz. Die einzige einfache und sehr brauchbare Methode der Gewinnung des Serumglobulin aus Blutserum, Lymphe und anderen Transsudaten ist die von Hammarsten angegebene Fällung desselben durch Sättigung der Flüssigkeit mit Magnesiumsulfat, Mischung der Masse mit gesättigter $MgSO_4$lösung, Filtration, Auswaschen mit der gesättigten Sulfatlösung, Lösen des Niederschlags in grossem Ueberschuss von Wasser, Durchleiten von CO_2, Waschen durch Decantiren, Filtration und schnelles Trocknen des Niederschlags im Vacuum.

Das gereinigte Serumglobulin besitzt nach Hammarsten die Zusammensetzung C 52,71; H 7,01; N 15,85; S 1,11; O 23,32 pCt. und nach Fredericq die spec. Rotation $(\alpha)_D = 47,8^0$, wenn es aus Hunde- oder Pferdeblut gewonnen ist und in verdünnter NaCl oder $MgSO_4$lösung untersucht wird.

Reines Serumglobulin ist unlöslich in gesättigter NaCllösung, aber unvollkommen fällbar durch dies Salz, wenn Serumalbumin gleichfalls in der Lösung enthalten ist. Die Coagulationstemperatur einer 10procentigen NaCllösung ist nach Hammarsten 69—76°. Eine Lösung von Serumglobulin in Wasser durch möglichst geringen Zusatz von Natronlauge hergestellt wird beim Hinzufügen sehr kleiner NaCl Mengen, so dass die Lösung nur 0,03—0,7 pCt. NaCl enthält, bei Zimmertemperatur gefällt.

Globulin der Krystalllinse und

Vitellin aus Eidotter sind beide in genügender Reinheit noch nicht dargestellt. Diese Körper werden durch gesättigte NaCllösung nicht gefällt, wohl aber durch Sättigung ihrer Lösung mit $MgSO_4$. Vergl. unten Nucleoalbumine und Ichthin, Ichthulin, Dotterplättchen vom Frosch u. s. w. (§ 192).

Muskelglobulin in geringer Menge aus den Muskeln der Wirbelthiere besonders der Warmblüter erhalten durch Extraction mit Wasser gelöst, nicht fällbar durch Sättigung der Lösung mit NaCl wohl aber

---

*) Hasebroek, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11 S. 348.
Limbourg, ebendas. Bd. 13 S. 450.

durch Sättigen mit $MgSO_4$; gerinnt in verdünnter wässeriger Lösung bei 46—47°, ist im reinem Zustande noch nicht isolirt.

167. III. Fibrin. Bei der Gerinnung des aus der Ader gelassenen Blutes bildet sich Fibrin als Gallert, die sich allmälig zusammen zieht, beim Schlagen faserig und elastisch wie Kautschuk wird, so lange es feucht ist. Man kann es mit sehr verdünnter Chlornatriumlösung gut auswaschen. Seine Zusammensetzung ist in guter Uebereinstimmung mit zahlreichen älteren Analysen von Hammarsten gefunden zu C 52,68; H 6,83; N 16,91; S 1,10; O 22,48 pCt. Durch Einwirkung von Alkohol wird es coagulirt, noch schneller durch Erhitzen auf 75°. Es wird hierbei weniger durchscheinend weiss, weniger dehnbar, wird schwerer löslich bei Pepsin- oder Trypsinverdauung oder Fäulniss und liefert nicht mehr bei dieser Behandlung nach dem Erhitzen wie das unveränderte Fibrin das Fibringlobulin. Das nicht erhitzte und nicht mit Alkohol behandelte Fibrin löst sich langsam in nicht zu verdünnten und nicht zu concentrirten wässerigen Lösungen neutraler Salze wie Kalium- oder Natriumnitrat, Chlornatrium, Bromkalium, Jodkalium, chlorsaurem Kali. Magnesiumsulfat oder Ammoniumsulfat wirken in concentrirter Lösung nicht lösend. In verdünnter Salzsäure ebenso in Essigsäure oder Alkalilauge quillt frisches Fibrin hoch auf, löst sich sehr langsam; in sehr verdünnter Salzsäure löst es sich zunächst fast gar nicht.

168. IV. Coagulirte Albuminstoffe entstehen aus Albuminen, Globulinen, Fibrin durch Erhitzen bei Anwesenheit von Wasser oder durch längere Einwirkung von Alkohol in neutraler Lösung. Eieralbumin wird auch durch starke Salzsäure ebenso durch Aether in einen coagulirten Albuminstoff übergeführt.

Die sämmtlichen coagulirten Albuminstoffe sind in kaltem und heissem Wasser, in Alkohol, in Aether unlöslich, lösen sich schwer in verdünnten Aetzalkalien, auch in verdünnter Salzsäure oder Essigsäure, Ammoniak. Durch starke Mineralsäuren werden sie in Acidalbumine und durch concentrirte Alkalilaugen in Alkalialbuminate übergeführt.

V. Amyloïde Substanz. Mit dem Namen Amyloïde Substanz hat Virchow einen Körper bezeichnet, der nur pathologisch in feinen concentrisch-schaligen Körnchen häufig an dem serösen Ueberzug der Hirntheile und Nervenanfänge oder als glasglänzende Infiltration in den verschiedensten Organen, Leber, Milz, Nieren u. s. w. Ablagerungen bildet, sich oft dabei als Infiltration der Blutgefässwandungen zeigt und meist einen wesentlichen Theil der Prostatasteinchen ausmacht. Bisher immer nur mangelhaft von andern Gewebsbestandtheilen getrennt hat die amyloïde Substanz keine gut übereinstimmenden Werthe bei den

Analysen ergeben. C. Schmidt hat darin 15,56 pCt. N, Kühne und Rudneff haben 15,53 pCt. N und 1,3 pCt. S, Friedreich und Kekulé C 53,6; H 7,0; N 15,0; S u. O 24,4 pCt. gefunden. Durch Jod wird amyloïde Substanz röthlich, durch Schwefelsäure und Jod violett bis blau gefärbt. Concentrirte Salzsäure löst amyloïde Substanz auf, die Lösung giebt, mit Wasser verdünnt, einen Niederschlag, welcher das Verhalten von salzsaurem Acidalbumin zeigt. Durch Lösen in Aetzalkalilauge erhält man ein Albuminat. Durch Pepsinverdauung wird die auf das Feinste zertheilte amyloïde Substanz sehr langsam unter Bildung von Propeptonen gelöst.

Zur Darstellung der amyloïden Substanz benutzt man sehr stark infiltrirte Drüsen, besonders Leber oder Milz, extrahirt die zum feinsten Pulver zerriebenen Organe (vorher sind grössere Gefässe und andere fremde Beimengungen möglichst zu entfernen) mit kaltem Wasser, kocht einige Zeit mit Wasser, um Bindegewebe als Leim aufzulösen und zu entfernen, kocht den Rückstand mit Alkohol und Aether zur Beseitigung von Fett und Cholesterin und behandelt den jetzt bleibenden Rückstand mit gutem künstlichen Magensaft. Die amyloïde Substanz wird zuletzt gelöst.

Als Kennzeichen der amyloïden Substanz ist die Jodreaction in erster Linie zu benutzen, die Schwerverdaulichkeit, Umwandlung durch starke Salzsäure zu Acidalbumin und durch starke Alkalilauge zu Albuminat geben weitere Anhaltspunkte.

VI. Acidalbumine entstehen:*)

169. 1. bei der Einwirkung verdünnter Salzsäure auf Globuline, schwieriger und langsamer aus Albuminen.

2. bei Einwirkung saurer Pepsinlösung auf native oder coagulirte Eiweissstoffe, Fibrin.

3. bei der Auflösung eines Albuminstoffs oder auch des Knorpel, Mucin, Blutfarbstoff in starker Salzsäure oder starker Salpetersäure.

4. bei der Fällung der Albumine oder Globuline durch Salze schwerer Metalle, z. B. Eisenchlorid, Quecksilberchlorid, Platinchlorid.

Von allen Acidalbuminen ist nur das Syntonin aus Muskeln gewonnen eingehender untersucht; die Unterscheidung der übrigen von einander ist noch nicht genügend durchführbar. Im Verhalten gegen Säuren, Alkalien sowie neutrale Salze stimmen sie alle im Wesentlichen überein, auch geben sie alle bei der Behandlung mit Kalkwasser, Ammoniumchlorid und Essigsäure (vergl. oben bei Myosin) myosinähnliche

*) Panum, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 4 S. 419.
Johansson, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 310.

Stoffe. Alle sind in Wasser unlöslich und werden durch Einwirkung von Aetzkali, Natron oder Kalkmilch, in mässiger Wärme auch durch Alkalicarbonat in Albuminate übergeführt.

Verschiedenheiten sind bei ihnen bis jetzt nachgewiesen 1) in der Quantität von Ammoniak, welche beim Kochen der Acidalbumine mit gesättigter Aetzbarytlösung entwickelt wird (Nasse), 2) in ihren spec. Drehungen, 3) in der procentischen Zusammensetzung besonders im Stickstoffgehalte. Nach Mörner löst sich Syntonin nicht in Dinatriumphosphatlösungen, während die übrigen Acidalbumine in diesen Salzlösungen sich auflösen. Die einen Acidalbumine sind frisch gefällt mehr gallertig als andere; am meisten voluminös ist das Syntonin. Einige weitere Unterschiede sind von Mörner und von Rollett bezeichnet. Die Verschiedenheit der Acidalbumine von den Albuminaten siehe unten bei den Albuminaten.

Syntonin C 54,1; H 7,3; N 16,1; S 1,1; O 21,5 pCt. entsteht durch Behandlung von Myosin oder der zerkleinerten Muskelsubstanz mit genügendem Ueberschuss von sehr verdünnter Salzsäure (0,1 pCt. HCl). Die filtrirte Lösung giebt das Syntonin als gallertig flockigen Niederschlag bei ihrer Neutralisation mit Na_2CO_3 oder NH_3 oder nach Zusatz von Natriumacetat und sorgfältigem Auswaschen mit Wasser. Frisch gefällt ist das Syntonin in Wasser unlöslich, aber leicht löslich in verdünnter Salzsäure oder Natriumcarbonat, unlöslich in neutralen Salzlösungen der Alkalimetalle. Beim Stehen unter Wasser erleidet es eine Veränderung, indem es dann in sehr verdünnter Salzsäure sich nicht mehr löst. Durch Erwärmen mit einprocentiger Natronlauge auf 30—40° wird es dann nach Danilewsky in Syntonin zurückgeführt und durch Lösen in Kalkwasser, nachherigen Zusatz von Chlorammonium fast bis zur Sättigung der Lösung und sehr schwaches Ansäuern mit Essigsäure geht es in Myosin oder eine dem Myosin sehr ähnliche Substanz über. Durch Behandlung mit starker Alkalilauge wird es schnell in Albuminat verwandelt. Die Lösung des Syntonin in möglichst wenig Kalkwasser giebt theilweise Coagulation beim Kochen. Alkalialbuminat wird durch Säure nicht wieder in Syntonin zurückverwandelt.

In der Lösung in sehr verdünnter Salzsäure zeigt das Syntonin unabhängig von der Concentration der Flüssigkeit eine specifische Drehung für gelbes Licht ungefähr —72° und ziemlich die gleiche specifische Drehung zeigt seine Lösung mit Natriumcarbonat.

VII. Albuminate.

170. Alle Albuminstoffe, welche bis jetzt besprochen sind, geben bei ihrer Behandlung mit starker Kali- ader Natronlauge unter bedeutender Steigerung der spec. Rotation nach links Körper, welche den

Eiweisskörpern ohne Zweifel noch zugehören, durch Säuren ausgefällt werden können, dabei aber etwas löslich in Wasser auch in Alkohol sind, ihren Lösungen saure Reaction verleihen, Carbonate unter Austreibung von CO_2 zerlegen, leicht in verdünnten Mineralsäuren, schwerer in Essigsäure löslich sind, in neutralen Salzlösungen nicht gelöst, aus sauren oder alkalischen Lösungen durch reichlichen Zusatz neutraler Salze ausgefällt, bei der Behandlung mit Pepsin in saurer oder mit Trypsin in neutraler oder schwach alkalischer Lösung in Pepton übergeführt werden.

Diese Körper sind allgemein als Albuminate*) oder Alkalialbuminate bezeichnet. Der hier und da für sie vorgeschlagene Name Albuminsäuren entspricht ihren Eigenschaften recht wohl.

Mit starken Säuren behandelt gehen die Albuminate nicht in Acidalbumin über. Nach Lieberkühn's Bestimmungen entspricht das aus Eieralbumin gewonnene Albuminat der Zusammensetzung $C_{74}H_{114}N_{18}SO_{23}$ entsprechend dem Procentgehalte C 53,59; H 6,95; N 15,63; S 1,99; O 21,84. Nach der angegebenen Formel sättigt es 2 Aequivalente Metall. Mörner giebt folgende Unterschiede im Verhalten der Acidalbumine und der Albuminate an: Die Neutralisationsniederschläge der Acidalbumine sind gallertig, die der Albuminate nicht. Die letzteren sind in Wasser etwas löslich, die ersteren nicht. Albuminate treiben im Wasser zertheilt CO_2 aus Barium-, Strontium-, Calcium-Carbonat aus und lösen sich in Verbindung mit diesen Metallen, die Acidalbumine dagegen treiben keine CO_2 aus und lösen sich nicht. Albuminat löst sich in nicht überschüssigem Kalkwasser mit saurer, Acidalbumin mit alkalischer Reaction. Möglichst alkaliarme Lösung von Albuminat über 100^0 im zugeschmolzenen Rohre erhitzt giebt Coagulation, eine solche von Acidalbumin gerinnt hierbei nicht. Albuminatlösungen mit Aetzkali werden durch allmälig zugesetzte Säure gefällt bei saurer, Acidalbumine bei noch alkalischer Reaction. Durch saures Natriumphosphat wird in Dinatriumphosphat gelöstes Albuminat schwerer gefällt als Acidalbumin.

Die Rotation der Polarisationsebene nach links wird durch die Alkalialbuminate stärker bewirkt als durch die andern Albuminstoffe, nur das den Albuminaten verwandte Caseïn hat ungefähr die gleiche Einwirkung wie diese. Serumalbumin zeigt bei Behandlung mit starker

*) Lieberkühn, Poggendorff's Ann. Bd. 86 S. 118.
Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 3 S. 424.
Soyka, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 12 S. 347.
Mörner, ebendas. Bd. 17 S. 468.
Rollett, Wien. Acad. Sitzungsber. Bd. 84 Abth. III.

Kalilauge eine Steigerung der spec. Drehung auf —86,0°, Eieralbumin auf —47,0°, coagulirtes Eieralbumin auf —58,8° für gelbes Licht.

VIII. Caseïne.

171. Caseïne sind bis jetzt nur gefunden in den Hautsecreten: Milch und Hauttalg, dem Secret der Bürzeldrüse der Vögel; angegeben ist auch Gehalt an Caseïn im milchähnlichen Secret im Kropf der Tauben nach Auskriechen der Jungen aus den Eiern.[1]) Sie schliessen sich in ihren Eigenschaften den Albuminaten am nächsten an, sind aber nicht ohne Aenderung ihrer Eigenschaften bis jetzt abzutrennen von nucleïnartiger Substanz, die man daraus durch Magenverdauung erhält. Die Caseïne werden deshalb von Physiologen in neuerer Zeit ebenso wie die von den Caseïnen sehr verschiedenen Vitelline als eine besondere Gruppe der Nucleoalbumine abgesondert von den sämmtlichen andern Albuminstoffen (siehe § 192).

Nach Hammarsten[2]) hat das Caseïn der Kuhmilch die Zusammensetzung C 53,00; H 7,00; N 15,70; S 0,80; P 0,85; O 22,65 pCt. Das Caseïn der Menschenmilch hat Makris znsammengesetzt gefunden C 52,35; H 7,27; N 14,65; S + O 25,73 pCt. (Phosphor ist in dieser Analyse als nicht zugehörig angesehen.)

Aus menschlicher Milch wird das Caseïn durch Sättigung derselben mit Magnesiumsulfat gewonnen. Das quantitativ ausgefällte Caseïn wird mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung gut ausgewaschen, in Wasser zertheilt, nochmals mit Magnesiumsulfat durch Sättigung gefällt, mit Alkohol und mit Aether gewaschen, bei 40° getrocknet, pulverisirt, mit Aether bis zur völligen Entfernung des Fettes gewaschen, dann das Magnesiumsulfat durch Dialyse entfernt, getrocknet.

Aus der Kuh- oder Ziegenmilch erhält man das Caseïn durch Verdünnen mit dem 4 bis 10fachen Vol. Wasser, vorsichtigen Zusatz von Essigsäure bis zur möglichst guten Ausfällung, Abfiltriren der käsigen Flocken durch Leinwand, mehrmals wiederholtes Lösen in Wasser mit wenigen Tropfen Natronlauge, wiederholtes Ausfällen durch vorsichtigen Zusatz von Essigsäure, Filtration, gutes Auswaschen mit Wasser, Behandlung mit Alkohol und Aether, Trocknen.

Man erhält nach den angegebenen Methoden die Caseïne aus Menschen-, aus Kuh- oder Ziegenmilch stets phosphorhaltig. Bei der Verdauung der Caseïne mit Magensaft bleibt der ganze Phosphorgehalt in der reichlichen ungelösten Substanz, welche von L. Liebermann

---

[1]) Bernard, Cl., Leçons sur les propriétés physiol. des liquides etc. T. II. p. 232. 1859.

[2]) Hammarsten, Jahresber. f. Thierchemie 1874 S. 145 und 1877 S. 158. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 227 u. Bd. 9 S. 273.

als eine metaphosphorsaure Verbindung eines Eiweisskörpers angesehen wird.

Die Caseïne stimmen in ihrem Verhalten gegen Säure, Alkalien, gegen Wasser, Alkohol, Reaction der wässerigen Lösungen u. s. w. mit den Alkalialbuminaten überein, weichen aber, abgesehen von dem geschilderten Verhalten bei der Magenverdauung, ab auch durch das Verhalten gegen das Labenzym in neutraler oder schwachsaurer Lösung bei Anwesenheit löslicher Calciumverbindung, wie sie in der Milch selbst vorhanden ist. Dies Labenzym hat auf die Albuminate keine Einwirkung, dagegen wird Caseïn durch dasselbe übergeführt in das in Wasser schwer lösliche Paracaseïn (Käse), während in geringer Menge ein leicht löslicher, den Propeptonen ähnlicher Körper entsteht, der bei der Labgerinnung der Milch als sogen. Molkeneiweiss in Lösung bleibt. Diese Spaltung des Caseïn durch Lab erfolgt auch, wenn kein Calciumsalz in der Lösung ist, aber die Gerinnung tritt erst auf Zusatz geringer Menge des löslichen Calciumsalzes ein. Das Paracaseïn löst weniger Calciumphosphat als das Caseïn. In heissem Alkohol löst sich sowohl Caseïn als Paracaseïn leichter auf als in kaltem Alkohol.

In Sodalösung, oder Barytwasser, Kalkwasser löst sich Caseïn leicht auf, und diese Lösungen können besonders bei Anwesenheit von Na Cl oder K Cl ziemlich stark mit Essigsäure angesäuert werden, ehe Niederschlag entsteht. Wird Caseïn aus wässeriger Lösung durch eine Säure gefällt, so wird ein wenig von der Säure im Niederschlage hartnäckig beim Auswaschen festgehalten, befindet sich also wahrscheinlich in chemischer Verbindung mit dem Caseïn.

Ist Caseïn mit starker Säure oder viel Aetzalkali behandelt, oder hat es einige Zeit gefällt unter Wasser gestanden, so ist es verändert und giebt mit Lab keine Gerinnung mehr.

Aus der Milch durch Magnesiumsulfat ausgefällt, durch Aether von Fett befreit, dann in Wasser gelöst, zeigte das Caseïn der Kuhmilch spec. Drehung — 80°, in schwach alkalischer Lösung — 76°, in sehr verdünnter Lösung — 87°, in stark alkalischer Lösung — 91° für gelbes Licht.

Das Caseïn der Menschenmilch ist weniger löslich in Wasser sowie in Alkohol als das Kuhcaseïn. Durch Lab gerinnt es nur unvollkommen schleimig.

IX. Propeptone oder Albumosen.

172. Die Propeptone oder Albumosen*) sind eine Klasse von

*) Kühne und Chittenden, Ueber Albumosen. Zeitschr. f. Biologie 1884 Bd. 20 S. 11.
Neumeister, ebendas. Bd. 23 S. 381 u. Bd. 26 S. 324.

Eiweissstoffen, welche 1) durch Magen-, oder 2) Pankreas-Verdauung, oder 3) durch Einwirkung von Wasser bei sehr erhöhter Temperatur, oder 4) durch Einwirkung verdünnter Mineralsäuren, oder durch Aetzalkalien oder durch Fäulniss aus den unter I bis VIII geschilderten Eiweissstoffen gebildet werden. Sie sind sämmtlich fällbar durch 1) Essigsäure und Ferrocyankalium in etwas salzhaltiger[1]) Lösung, 2) fällbar durch überschüssige Pikrinsäure, 3) durch Sättigung ihrer Lösung mit neutralem Ammoniumsulfat bei der Siedetemperatur, 4) durch basisch essigsaures Blei und Ammoniak, 5) durch Phosphorwolframsäure oder Jodquecksilberjodkalium und Salzsäure, 7) durch Gerbsäure[2]). Bei Anstellung der Biuretprobe mit einer concentrirten Albumoselösung kann nach Einbringen der ersten Tropfen $Cu\,SO_4$lösung die Färbung wieder verschwinden, erscheint aber beim weiteren Eintropfen derselben dann bleibend und stark (Neumeister).

Soweit bis jetzt die Untersuchungen reichen, besitzen die Albumosen sämmtlich die Eigenschaft die Polarisationsebene nach links zu drehen. Sie sind noch nicht krystallisirt dargestellt.

Sie werden von allen Eiweissstoffen, welche unter den Gruppen I bis incl. VI beschrieben sind, getrennt durch Erhitzen der neutralisirten Lösung zum Sieden und Filtration, von den Albuminaten und Caseïnen VII und VIII ziemlich vollständig durch mässiges Ansäuern der Lösung, wobei diese Körper bis auf geringe Mengen ausgeschieden werden. Die Abtrennung der Peptone geschieht am Besten durch Sättigung der Lösung mit $(NH_4)_2\,SO_4$ bei Siedetemperatur; es bleibt jedoch ein Theil von Deuteroalbumose in Lösung.

Die Propeptone werden durch fortgesetzte Einwirkung von Verdauung oder Fäulniss oder verdünnten Mineralsäuren in Peptone umgewandelt.

A. In Wasser lösliche Propeptone.

173. 1. Protalbumosen sind in kaltem Wasser in jedem Verhältniss löslich und werden, wenn die Lösung zum Sieden erhitzt wird, weder gefällt noch sonst verändert. Durch Sättigung der neutralen

---

[1]) Diese Reaction wird durch Anwesenheit von viel Salz oder Pepton beeinträchtigt.

[2]) Die Gerbsäurelösung von Almén (4 gr Gerbsäure, 8 cbcm Essigsäure von 25 pCt. und 190 cbcm Weingeist von 40—50 pCt.) giebt mit Eiweiss-, Albumosen- und Peptonlösungen noch erkennbare Trübung bis zu 1 Thl. auf 100000 Thl. Flüssigkeit. Auch die mit $(NH_4)_2\,SO_4$ gesättigte Flüssigkeit kann, wenn sie mit dem gleichen Vol. Wasser verdünnt ist, für diese Reaction benutzt werden. Zeitschr. f. physiol. Chemie. Bd. 13 S. 143.

Lösung mit Steinsalz werden sie bis auf geringe in Lösung bleibende Quantität ausgefällt; in der mit mässiger Quantität Essigsäure angesäuerten Lösung tritt durch Sättigung mit Steinsalz eine Fällung ein. Durch Sättigung mit Na Cl und Zusatz von nicht zu viel Essigsäure wird Protalbumose noch als deutliche Trübung gefällt, wenn in 1000 Thl. Flüssigkeit 1 Thl. enthalten ist. Bei dieser letzteren Fällung wird auch Deuteroalbumose mitgefällt. Von dem letzten Theil der aus Protalbumose bei der Verdauung entstandenen und der Protalbumose beigemengten Deuteroalbumose kann erstere befreit werden durch Sättigung der wässerigen Lösung im Sieden mit $(NH_4)_2 SO_4$. Die sich abscheidenden Krusten von Protalbumose werden abgenommen, während Deuteroalbumose (und Pepton) in Lösung bleiben. Wird die Protalbumose durch Dialyse gereinigt, so scheiden sich Heteroalbumose fast vollständig, Dysalbumose vollständig ab, während Protalbumose in Lösung bleibt.

Durch Salpetersäure werden Protalbumosen in wässeriger Lösung in der Kälte und Wärme gut gefällt. Verdünnte Lösung von Kupfersulfat fällt Protalbumosen noch als starken Niederschlag, wenn die Lösung 1 Thl. für 5000 Thl. Flüssigkeit enthält; kommt 1 Thl. Protalbumose auf 10 000 Thl. Flüssigkeit, so entsteht durch das Kupfersulfat noch deutliche Trübung. In Alkohol sind Protalbumosen unlöslich.

174. 2. Deuteroalbumosen bilden sich aus Protalbumosen oder Heteroalbumosen durch fortgesetzte Pepsin- oder Trypsin-Verdauung oder durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, sind in jedem Verhältniss in kaltem oder heissem Wasser löslich, in reiner, neutraler wässeriger Lösung durch Sättigung mit Steinsalz nicht fällbar, in einer mit Essigsäure stark angesäuerten Lösung durch Sättigung mit Steinsalz etwa zur Hälfte ausfällbar. Die Deuteroalbumose aus Fibrin dargestellt in Wasser und etwas Essigsäure gelöst giebt beim Sättigen mit Na Cl noch Trübung, wenn in 100 Thl. Flüssigkeit mehr als 1 Thl. Deuteroalbumose gelöst ist.

Durch Salpetersäure werden Deuteroalbumosen nicht gefällt, wenn nicht Salze z. B. Na Cl in Lösung sind. Der Niederschlag ist in der Wärme besonders bei 100^0 viel löslicher als in der Kälte, wenn nicht sehr viel Salpetersäure zugesetzt ist.

Die aus Protalbumose bei Magenverdauung dargestellte Deuteroalbumose wird durch Sättigen mit Ammoniumsulfat im Sieden der Flüssigkeit nur unvollständig, dagegen die aus Heteroalbumose dargestellte vollständig gefällt, ebenso die bei Pankreasverdauung entstandene. Es ergiebt sich hieraus die Existenz zweier verschiedenen Deutero-

albumosen. Die aus Protalbumose der Fibrinverdauung dargestellte Deuteroalbumose, welche bei Sättigung mit Ammoniumsulfat nicht abgeschieden ist, fällt beim Abdampfen dieser Lösung mehr und mehr aus, kann abgetrennt und durch Dialyse gereinigt werden.

Die Fällung der Deuteroalbumose durch Phosphorwolframsäure gelingt auch bei reichlichem Säurezusatz nicht vollständig (Neumeister).

Deuteroalbumoselösungen, bei Pankreasverdauung erhalten, werden nach Entfernung des durch Sättigung mit Na Cl und Essigsäure erhaltenen Niederschlags durch viel Kupfersulfat noch gefällt.

Beim Erhitzen trockner Deuteroalbumose auf 180—200° werden Protalbumose, Dysalbumose und Acidalbumin erhalten.

3. Histon wurde aus den rothen Blutkörperchen der Gans und anderer Vögel von Kossel[1]) erhalten durch Auswaschen derselben mit Wasser und Aether und Behandlung des Rückstandes mit verdünnter Salzsäure. Durch die verdünnte Säure wird das Histon ausgezogen und offenbar durch Abspaltung aus einer Verbindung mit Nucleïn gebildet. Es ist im Wasser löslich und wird durch Alkohol gefällt. Aus wässeriger Lösung wird es ausserdem gefällt durch Sättigung mit Steinsalz besonders nach Salzsäurezusatz; es wird auch gefällt durch Sättigung der Lösung mit Magnesiumsulfat oder Ammoniumsulfat. Der Niederschlag wird durch Dialyse mit Wasser von Salz befreit. Es coagulirt nicht beim Erhitzen der wässerigen Lösung, giebt aber mit Ammoniak einen in Wasser unlöslichen Niederschlag. Die Zusammensetzung des in Wasser löslichen Histon wurde von Kossel zu C 50,67; H 6,99; N 17,93; S 0,50; O 23,91 pCt., des mit Ammoniak gefällten, in Wasser unlöslichen Histon zu C 52,31; H 7,09; N 18,46; S + O 22,14 pCt. gefunden. Ein ähnlicher Körper wurde von Lilienfeld[2]) aus den Leukocyten der Lymph- und Thymusdrüsen, aus den Milzzellen und Hodenzellen gewonnen; er ist stets in Verbindung mit Nucleïn als Nucleohiston (siehe dieses § 192) vorhanden. Das Histon aus den Leukocyten gerinnt beim Erwärmen und unterscheidet sich dadurch von dem Histon aus den Vogelblutkörperchen. Es besitzt die Fähigkeit das Blut flüssig zu erhalten. Eine dem Histon ähnliche Substanz wurde aus den Spermatozoën des Karpfens dargestellt.

---

[1]) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 8 S. 511.
Behrens, Kossel u. Schiefferdecker, Die Gewebe des menschlichen Körpers, Braunschweig 1889 Bd. 1 S. 265.

[2]) Verhandl. d. physiol. Ges. zu Berlin 1891—1892 No. 11 u. 16.

B. In Wasser ganz oder fast vollständig unlösliche Propeptone.

175. 1. Heteroalbumosen werden aus der neutralisirten gekochten und filtrirten Magenverdauungsflüssigkeit durch Sättigung mit Steinsalz ausgefällt. Wird der Niederschlag abfiltrirt und mit Wasser der Dialyse unterworfen, so scheidet sich, während die Protalbumose sich auflöst, die Heteroalbumose als zähe glasige Masse an der Wandung der Pergamentpapierhülsen ab und wird beim weiteren Waschen mit Wasser nicht verändert. Sie ist in kaltem Wasser nicht ganz unlöslich, noch leichter löst sie sich in Wasser bei 40°, ist löslich in verdünnten Säuren, Alkalien, Alkalicarbonat und wird durch Neutralisiren dieser Lösungen nur unvollkommen wieder ausgefällt. In 10procentiger NaCllösung lösen sich Heteroalbumosen mit alkalischer Reaction. In siedendes Wasser gebracht werden sie coagulirt, schrumpfen dabei und erstarren beim Erkalten zu einer lederartigen Masse; sie können dann wieder gelöst werden durch Wasser mit 0,1 bis 0,2 pCt. HClgehalt, nur unvollkommen durch Sodalösung von 0,25 bis 0,3 pCt. Gehalt. Durch Lösen in der angegebenen verdünnten Säure werden sie wieder in ursprüngliche Heteroalbumose zurückgeführt. Lösungen von Heteroalbumose in NaCllösung werden beim Sieden um so stärker getrübt, je grösser der Gehalt an Heteroalbumose ist; der Gehalt an NaCl scheint weniger Einfluss auszuüben. Durch Behandlung der nahezu gesättigten Heteroalbumoselösung in NaCl zu 3—4 pCt. mit concentrirter Salzsäure oder Natronlauge erhält man Lösungen, welche durch Neutralisation gefällt werden, und zwar beginnt die Ausscheidung schon vor erreichter Neutralität. Diese Fällungen sind aber nie vollständige. Durch Sublimatlösung wird Heteroalbumose nur gefällt bei genügendem Ansäuern mit Essigsäure. Bei fortgesetzter Pepsinverdauung wird sie in Deuteroalbumose übergeführt.

176. 2. Dysalbumose bleibt ungelöst zurück, wenn der durch Sättigung der neutralisirten, gekochten und filtrirten Verdauungslösung mit NaCl gebildete Niederschlag der Dialyse unterworfen wird, zusammen mit Heteroalbumose, während Protalbumose in Lösung übergeht. Wird dann zuerst durch verdünnte NaCllösung, dann durch Wasser mit 0,2 pCt. HClgehalt die Heteroalbumose gelöst, so bleibt die Dysalbumose allein ungelöst zurück. Wird darauf die Heteroalbumose durch Sättigung mit Steinsalz in neutraler Flüssigkeit gefällt, und wieder in obiger Weise gelöst, so bleibt stets etwas Dysalbumose zurück. Durch Behandlung mit 1procentiger Sodalösung wird die Dysalbumose in Heteroalbumose übergeführt.

Bereits isolirte Dysalbumose ist zwar in neutraler Salzlösung unlöslich, ebenso in Wasser, aber in Gegenwart von viel Deuteroalbumose geht sie in gewisser Quantität selbst in einen salzfreien Wasserauszug über und wird bei Abwesenheit von Protalbumose durch Steinsalz nicht niedergeschlagen. Fügt man dann Protalbumose hinzu, so wird sie mit dieser gefällt und durch Sättigung des Filtrats mit $(NH_4)_2SO_4$ erhält man reine Deuteroalbumose.

3. Antialbumid bildet sich beim Kochen von Fibrin mit 5procentiger Schwefelsäure neben Prot- und Deuteroalbumose; es entsteht bei dieser Behandlung auch Heteroalbumose. Beim fortgesetzten Kochen mit verdünnter Schwefelsäure geht Antialbumid in Antideuteroalbumose über. Aus der schwach alkalischen Lösung scheidet es sich bei der Behandlung mit Trypsin bei 40° als Gerinnsel aus. Durch Trypsinverdauung, ebenso durch starke Pepsinverdauung wird es in Antipepton übergeführt.

X. Peptone[1]).

177. Peptone sind in Wasser in jedem Verhältnisse lösliche Umwandlungsproducte der natürlichen Eiweissstoffe und ihrer näheren Spaltungsproducte (auch der Spaltungsproducte der Proteïde), unlöslich in Alkohol oder Aether, von neutraler Reaction, nur amorph bekannt.

1. Amphopepton, dargestellt von Kühne und Chittenden[2]) aus Fibrin mit Pepsin (gewonnen nach dem von ihnen beschriebenen Verfahren) und 0,4procentiger Salzsäure unter Zusatz von 0,25 pCt. Thymol. Diese Verdauung wurde 2 Wochen lang bei 37—40° fortgesetzt. Die hierbei erhaltene Flüssigkeit, mit Natronlauge neutralisirt, wird durch Leinwand filtrirt, unter schwachem Ansäuern mit Essigsäure eingedampft auf das halbe Vol., durch Ueberschuss von trocknem Ammoniumsulfat vollkommen ausgefällt, filtrirt, der Salzrückstand abgepresst, und die Flüssigkeit durch Sieden mit Bariumhydrat in genügender Quantität versetzt, dann mit viel Wasser und Bariumcarbonat behandelt bis zum Verschwinden des Ammoniakgeruches, das Bariumsulfat durch Spitzbeutel abgetrennt, die Flüssigkeit auf das frühere Vol. abgedampft, die darin enthaltene Verbindung des Pepton mit Barium in sehr geringem Ueberschuss von Schwefelsäure ausgefällt, filtrirt, der Ueberschuss der Säure durch Ammoniak abgestumpft, auf halbes Vol. eingedampft, dann mit 6procentiger Schwefelsäure und Phosphorwolframsäure das Pepton ausgefällt und mit sehr viel Wasser gewaschen. Dieser Niederschlag wird dann mit überschüssigem Baryt-

---

[1]) Kühne u. Chittenden, Zeitschr. f. Biolog. 1886 Bd. 22 S. 423—458. Neumeister, ebendas. Bd. 26 S. 324.

[2]) a. a. O. S. 430.

hydrat zerlegt, das gelöste Barium durch Schwefelsäure genau ausgefällt. In der Flüssigkeit fand sich noch etwas freie Salzsäure. Nachdem dieselbe durch Ammoniak neutralisirt ist, wird abgedampft und der Rückstand durch wiederholtes Fällen und Auskochen mit Alkohol frei von Ammoniumchlorid erhalten. Nach Neumeister ist das so erhaltene Präparat nicht frei von Albumosen, sondern enthält Prot- und Deuteroalbumose, die (wie oben angegeben ist) durch Sättigung der Lösung im Sieden mit Ammoniumsulfat nur unvollkommen ausgefällt wird.

Das so erhaltene Präparat mit absolutem Alkohol und Aether gewaschen und bei 105° getrocknet, bildet ein äusserst hygroskopisches Pulver, welches beim Zusammenkommen mit wenig Wasser zischt wie Phosphorsäureanhydrid und die Zusammensetzung hat: C 48,47 bis 48,75; H 7,02—7,21; N 16,26—16,86; S 0,77; O 27,01 pCt.

Bei der Behandlung mit Pankreasverdauung oder Kochen mit verdünnter Schwefelsäure zerfällt dies Pepton unter Bildung von Leucin, Tyrosin und anderen Amidosäuren, bei der ersteren (Trypsineinwirkung) entsteht neben Leucin und Tyrosin Antipepton.

178. 2. Antipepton wird dargestellt aus gereinigtem Blutfibrin in der 10fachen Quantität Wasser zertheilt mit 0,25 pCt. Soda versetzt und 0,5 pCt. Thymol durch 6tägige Behandlung mit gereinigtem Trypsin*). Die Verdauungsflüssigkeit wird dann mit Essigsäure schwach angesäuert, gekocht, durch Spitzbeutel filtrirt, stark eingedampft. Nach dem Auskrystallisiren einer grossen Quantität Leucin und Tyrosin wird der Syrup abgesaugt, mit Alkohol bis zur beginnenden Peptonfällung versetzt, aufgekocht und zur Krystallisation stehen gelassen. Die dann abfiltrirte Flüssigkeit wird nun durch Abdampfen von Alkohol befreit, mit gesättigter Ammoniumsulfatlösung versetzt, mit welcher vorher die Niederschläge von Leucin und Tyrosin gewaschen sind, dann durch weiteren Zusatz von Ammoniumsulfat die Flüssigkeit völlig gesättigt. Die abfiltrirte Lösung ist alsdann von Schwefelsäure und Ammoniak ebenso, wie es oben für das Amphopepton geschildert ist, durch Behandlung mit Bariumhydrat und Bariumcarbonat und Eindampfen zu befreien.

Das auf diese Weise erhaltene Barytpepton ist dann noch durch wiederholtes Fällen und Auskochen mit Alkohol von Leucin und Tyrosin zu befreien, das Barium durch vorsichtigen Schwefelsäurezusatz auszufällen. Schliessliche Fällung mit Alkohol und Extrahiren damit einige Male wiederholt, auch nach Zusatz von wenig Essigsäure lassen das Pepton

*) Kühne u. Chittenden, a. a. O. S. 435.

gewinnen. Dasselbe trocknet sehr schwer, schon auf dem Wasserbade entweicht etwas H_2S, zugleich tritt zuweilen starker Geruch nach Valeriansäure auf. Constantes Gewicht wird erst bei 110° erreicht.

Auch das Antipepton kann mit Phosphorwolframsäure ausgefällt werden, aber die Ausfällung gelingt nicht vollständig. Die Zusammensetzung nach Kühne und Chittenden[1]) für das Antipepton aus Fibrin gewonnen ist C 46,59—47,68; H 6,69—7,03; N 16,68—18,28; S 0,67—0,73; O 27,77—28,41; Asche 3,67—10,02 pCt.

Dies Pepton wird durch Pankreasverdauung nicht weiter verändert, liefert beim Kochen mit mässig verdünnter Schwefelsäure kein oder sehr wenig Tyrosin, giebt in Uebereinstimmung hiermit mit Millon's Reagens keine schöne Rothfärbung, sondern schmutzig gelbe bis röthliche Färbung. Im Gegensatz hierzu giebt das Amphopepton der Magenverdauung aus Fibrin dargestellt intensive Rothfärbung mit Millon's Reagens und reichlich Tyrosin beim Kochen mit mässig verdünnter Schwefelsäure.

Weil Heteroalbumose sowie Antialbumid bei der weiteren Verdauung nur eine Deuteroalbumose geben, welche durch Ammoniumsulfat vollständig gefällt wird, kann das aus diesen Albumosen erhaltene Pepton durch diese Fällung völlig frei von Albumosen gewonnen werden, was mit dem Pepton aus Protalbumose nicht der Fall ist[2]).

Durch Quecksilberchlorid, ebenso durch basisches Bleiacetat werden beide Peptone gefällt, mit Essigsäure und Ferrocyankalium bleiben die Lösungen beider Anfangs klar, zeigen jedoch später Opalescenz. Eisessig und concentrirte Schwefelsäure geben braunrothe Färbung. Die Biuretreaction mit Natronlauge und vorsichtigem Kupfersulfatzusatz giebt sehr schöne Purpurfärbung.

Oxyprotsulfonsäure.

179. Aus Eiweissstoffen, aber nicht aus Albumosen und Pepton ist zuerst von Brücke, dann von Maly[3]) durch Einwirkung des halben bis gleichen Gewichtes Kaliumpermanganat eine Säure in reichlicher Menge erhalten, die aus dem Filtrat des Manganschlammes mit Säure gefällt in 17,24 Thl. Wasser löslich ist, amorph erscheint, in Alkalien sich leicht löst, in den Lösungen essigsaurer Salze unter Inanspruchnahme eines Theils des Alkali gelöst wird. Die Zusammensetzung ist gefunden zu C 51,21; H 6,89; N 14,59; S 1,77; O 25,54 pCt.

Diese Säure giebt mit Aetzkali und Bleiacetat gekocht keine

[1]) a. a. O. S. 452.
[2]) a. a. O. Bd. 24 S. 267.
[3]) Maly, Monatshefte f. Chemie Bd. 6 S. 107.

Schwärzung mehr, mit Aetzkali geschmolzen die Säuren der Fettsäure- und Oxalsäurereihe, SO_2 und keine aromatischen Körper ausser Benzol, welches überdestillirt. Bei der Oxydation mit Chromsäuregemisch ist Benzoësäure erhalten. Es scheint also in der Oxyprotsulfonsäure bei diesem Oxydationsprocesse durch Permanganat das Eiweissmolecül im Wesentlichen erhalten, aber es sind für 1 Atom Schwefel 4 Atome Sauerstoff eingetreten, und hierbei ist die aromatische Gruppe so geändert, dass kein Tyrosin, Indol, Skatol, Phenol mehr durch Spaltung entstehen kann, sondern nur Benzoësäure.

Bei der Pepsinverdauung geht die Oxyprotsulfonsäure in die leicht lösliche Oxypeptonsulfonsäure über.

Albuminoide.

180. Die Albuminoide bilden eine Klasse von Stoffen, welche an der Bildung der Gewebe und der Formgebung und Festigkeit der Organe betheiligt, als nahe Verwandte der Eiweisskörper sich erkennen lassen durch die chemischen Umwandlungen, durch Verdauung oder Spaltungen durch Einwirkung von Wasser bei hoher Temperatur oder verdünnter Säure oder Alkali, indem die dabei erscheinenden Spaltungsproducte entweder die nämlichen sind, wie man sie bei gleicher Behandlung auch aus den Eiweissstoffen erhält, wie Leucin, Tyrosin oder als Amidoderivate fetter Säuren denselben nahe stehen.

Von den Bestandtheilen der Organe höherer Thiere gehören hierher die Gruppe der Keratine, das Elastin, das Collagen. Von den Bestandtheilen der Avertebraten sind hierher zu zählen das Conchiolin, Cornein, Spongin, Fibroin.

Keratine.

181. Aus Haaren, Nägeln, Horn, Federn, Epidermis, Epithelien, Schildpatt, Fischbein, Schalenhaut der Vogel- und Reptilieneier erhält man durch Auskochen mit Alkohol, Aether, Wasser, Behandlung mit verdünnten Säuren Körper als Rückstände, welche die Form dieser Gewebe bedingen und die man, obwohl sie noch recht verschiedene Zusammensetzung haben, unter dem gemeinsamen Namen Keratin zusammenfasst. Sie quellen wenig in Wasser, sind aber trocken recht hygroskopisch. Beim Kochen mit Wasser ändern sie sich kaum, aber mit Wasser auf 150° längere Zeit erhalten lösen sie sich, einige unter Entwickelung von etwas H_2S zu einer trüben Flüssigkeit, die beim Verdampfen einen in Wasser kaum löslichen Rückstand lässt. Ihre Zusammensetzung schwankt bedeutend: C 49,5 — 55,0; H 6,4 — 7,0; N 16,2—17,7; S 0,7—5,0; O 19,56—25,0.

Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure geben Hornspähne Leucin und viel (bis 5 pCt.) Tyrosin.[1]) Nach der Methode von Hlasiwetz und Habermann[2]) mit starker Salzsäure gekocht liefern Haare sowie Horn H_2S, NH_3 Tyrosin, Leucin, Asparaginsäure und viel Glutaminsäure. Der Einwirkung der Magen- und Pankreasverdauung auch der Fäulniss widerstehen die Keratine sehr hartnäckig. In concentrirter Schwefelsäure lösen sie sich leicht.

Neurokeratin, Bestandtheil der markhaltigen Nerven, wird nach Kühne und Chittenden[3]) erhalten durch Entfernung des Nervenmarks mittelst kalten und heissen Alkohols, Aethers, Behandlung des Rückstandes mit kräftiger Pepsin- dann Pankreasverdauung, dann mit $^1/_2$ procentiger Alkalilauge und nochmaliger Behandlung mit Alkohol und Aether. Die Zusammensetzung des Neurokeratins wurde gefunden zu C 56,11—58,45; H 7,27—8,02; N 11,46—14,32; S 1,63—2,24; Asche 0,74—2,38 pCt. Es löst sich schwer in heisser starker Kalilauge und giebt beim Neutralisiren mehr Niederschlag als Keratine bei gleicher Behandlung. Auch in ziemlich concentrirter Schwefelsäure ist das Neurokeratin nur langsam löslich. Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure werden Tyrosin und Leucin erhalten; von letzterem weniger als aus den Eiweissstoffen.

Elastin.

182. Das Elastin, dargestellt aus dem Nackenbande vom Rinde,[4]) durch Kochen desselben mit Alkohol, Aether, Wasser, 10procentiger Essigsäure, 1procentiger Kalilauge, nachheriges Auswaschen mit Wasser, 5procentiger Salzsäure, abermaliges Waschen mit Wasser ist ein schwefelfreier Körper; wird die Behandlung mit Alkali unterlassen, so enthält es nach Chittenden und Hart 0,3 pCt. Schwefel. Im Uebrigen ist die Zusammensetzung gefunden C 54,32; H 6,99; N 16,75; O 21,94; Asche 0,51 pCt. (Horbaczewski) und C 54,24; H 7,27; N 16,70; O 21,79; Asche 0,90 pCt. (Chittenden und Hart).

Das Elastin besitzt eine gelbliche Farbe und im feuchten Zustande eine auffallende Dehnbarkeit. Beim Kochen mit Wasser wird es nicht angegriffen, in concentrirter Aetzkalilauge löst es sich, ebenso beim Kochen mit mässig verdünnter Schwefelsäure. Als Zersetzungsproducte beim Kochen mit Säuren sind gefunden Leucin, wenig Tyrosin, Glycocoll,

[1]) Piria, Ann. Chem. Pharm. Bd. 82 S. 241.
[2]) Horbaczewski, Wien. Akad. Sitzungsber. 1879 Bd. 80 II.
[3]) Zeitschr. f. Biolog. Bd. 26 S. 291.
[4]) Vergl. Darstellung, Analysen, Verdauungsproducte: Horbaczewski, Zeitschrift f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 330.
Chittenden u. Hart, Zeitschr. f. Biolog. Bd. 25 S. 368.

Amidovaleriansäure, Ammoniak. Bei der Fäulniss sind weder Indol noch Skatol aufgefunden, auch kein Phenol.

Durch künstliche sowie (menschliche) natürliche Magenverdauung*) wird Elastin gelöst, wenn auch langsamer als fast alle Eiweisskörper, und es bilden sich zwei Verdauungsproducte, welche gewisse Aehnlichkeit mit den Albumosen haben, aber kein dem Pepton ähnlicher Körper, so dass aus der neutralisirten Flüssigkeit durch Sättigung mit Ammoniumsulfat die ganzen Verdauungsproducte des Elastins gefällt werden. Das eine dieser Verdauungsproducte, Horbaczewski's Hemielastin, von Chittenden und Hart Protoelastose genannt, ist in heissem Wasser fast gar nicht, in kaltem Wasser leicht löslich, wird durch starke Mineralsäuren aus der wässerigen Lösung gefällt, durch Ueberschuss der Säure wieder gelöst. Durch Essigsäure und Ferrocyankalium, durch Phosphorwolframsäure, durch 30procentige, mit NaCl gesättigte Essigsäure, auch durch Gerbsäure, durch Pikrinsäure, durch Essigsäure und Phenol, Jodquecksilberjodkalium und Salzsäure etc. werden Fällungen hervorgerufen, dagegen nicht durch Kupfer- oder neutrales Bleiacetat.

Das andere Verdauungsproduct, von Horbaczewski Elastinpepton, von Chittenden und Hart Deuteroelastose genannt, ist weder durch Mineralsäuren, noch durch Essigsäure und Ferrocyankalium fällbar, in heissem, wie in kaltem Wasser leicht löslich, in der mit NaCl gesättigten neutralen Lösung fällbar als gummiartige Masse durch mit NaCl gesättigte 30procentige Essigsäure. Die Reaction von Adamkiewicz mit Schwefelsäure und Essigsäure gelingt weder mit der einen, noch mit der anderen Elastose, während die Biuretreaction, die Millon'sche Reaction, die Fröhde'sche Reaction, sowie die Gelbfärbung mit starker Salpetersäure beim Erwärmen eintritt wie mit den Eiweissstoffen.

Durch anhaltendes Kochen des Elastins mit HCl haltigem Wasser nach dem Liegen desselben in 5procentiger Salzsäure wurden von Chittenden und Hart die nämlichen Elastosen erhalten wie durch die Magenverdauung. Durch Pankreasverdauung in 0,5procentiger Sodalösung bilden sich gleichfalls Proto- und Deuteroelastosen, aber von etwas anderer Zusammensetzung, und bezüglich der Deuteroelastose auch von anderen Reactionen. Die procentische Zusammensetzung des Hemielastin zu C 54,22; H 7,02; N 16,84, Asche 0,48 pCt. und die des Elastinpeptons zu C 53,57; H 8,08; N 16,2 pCt. von Horbaczewski gefunden ist von Chittenden und Hart für die Pepsinverdauung im Wesentlichen übereinstimmend erhalten.

---

*) Horbaczewski, a. a. O.

Spec. Drehung des Hemielastins $(\alpha)_D = -92,7^0$.
„ „ „ Elastinpeptons $(\alpha)_D = -87,94^0$.

Die Hemielastose bei 100—120⁰ getrocknet wird in Wasser unlöslich und zeigt in ihrem Verhalten vollkommene Uebereinstimmung mit dem Elastin, aus dem sie entstanden.

Die Substanz der ligamenta flava, des Elastins der Ohrknorpel, und besonders der Arterien und Venenhäute bedürfen noch näherer Untersuchung. Nach Walter*) besteht die organische Grundsubstanz der Schalen von Reptilieneiern aus Elastin.

Collagen und Glutin.

183. Das Collagen ist die die Bindegewebszellen umgebende Grundsubstanz im lockern Bindegewebe, Sehnen, Bändern, Fascien, ebenso im Knochen die organische Grundsubstanz, welche die Knochenkörperchen umgiebt. Sie ist farblos, quillt in kaltem Wasser, noch mehr in verdünnten Säuren oder sehr schwachen Alkalilaugen, ist unlöslich in Alkohol, Aether, Chloroform, quillt in starken Alkalien sich nicht in der Kälte aber beim Erhitzen lösend, nicht in Sodalösung. In siedendem Wasser löst sich das Collagen nach zuerst eingetretener Quellung und Abnahme seiner Cohärenz und der Schärfe der Contouren der Fasern; es bildet sich dann eine Flüssigkeit, die bei nicht zu grosser Verdünnung beim Erkalten auf gewöhnliche Temperatur bald zur Gallert erstarrt, beim Erwärmen über 30⁰ wieder schmilzt. Die Zusammensetzung des Collagen fand Hofmeister zu C 50,75; H 6,47; N 17,86; S + O 24,92 pCt. im Mittel.

Die aus Knochen (besonders nach Extraction des Calciumphosphatcarbonats mit verdünnter Salzsäure) durch siedendes Wasser erhaltene Lösung zeigt dieselben Eigenschaften wie die aus Bindegewebe erhaltene Leimlösung. Die Leichtigkeit, mit welcher diese Lösung des Collagens zu Glutin geschieht, ist am grössten bei Fischen und nackten Amphibien, schwieriger und langwieriger ist die Lösung bei Säugern und Vögeln, besonders langsam bei alten Thieren. Der Salzgehalt der Lösung hat Einfluss auf die Gerinnung, salzarme Leimlösung gerinnt weniger gut als salzreichere. Durch Magensaft wird Collagen gelöst, durch Pankreasverdauung nur dann, wenn es vorher mit Wasser über 70⁰ erhitzt oder durch verdünnte Säure gequellt war. Durch Gerbsäure wird Collagen zum Schrumpfen gebracht und in Leder verwandelt (Lohgerberei).

Das Glutin (Leim), in welches Collagen durch siedendes Wasser verwandelt wird, ist in kaltem Wasser nur quellbar, löst sich in Alkalien,

*) Zeitschr. f. Biol. Bd. 27 S. 374.

wird von Säuren nicht gefällt. Durch Ansäuern mit Essigsäure und sehr vorsichtigen Zusatz von Ferrocyankalium tritt Fällung ein, löslich im Ueberschuss von Ferrocyankalium. Die warme wässerige Lösung reagirt neutral, wird gefällt durch Pikrinsäure, durch Phosphorwolframsäure oder Phosphormolybdänsäure und Salzsäure, durch Jodquecksilberjodkalium, auch durch Quecksilberchlorid bei Gegenwart von NaCl und HCl, auch nach Sättigung mit NaCl durch Essigsäure; durch Sättigung der Lösung mit Ammoniumsulfat. Warme Leimlösung giebt mit Natronlauge und wenig Kupfersulfat Purpurfärbung (Biuretreaction), mit Millon's Reagens erhitzt sehr geringe Röthung, mit concentrirter Schwefelsäure und Eisessig keine Rothfärbung.

Durch anhaltendes Kochen mit viel Wasser ebenso durch Verdauung wird Glutin unter geringer Wasseraufnahme gespalten in die beiden Körper Semiglutin und Hemicollin, ersteres fällbar durch Alkohol, bei gewöhnlicher Temperatur fällbar durch Platinchlorid; der Niederschlag löst sich, wenn frisch gefällt, beim Erhitzen und fällt beim Erkalten wieder aus. Das Hemicollin wird durch Alkohol nicht gefällt, eben so wenig durch Platinchlorid[1]).

Beim Kochen des Collagens oder des Leims oder des Hemicollins mit Salzsäure nach dem Verfahren von Hlasiwetz u. Habermann[2]), ebenso beim Kochen mit Aetzkali wird relativ schwer NH_3, dagegen viel Glycocoll, Leucin, Glutaminsäure erhalten; Tyrosin wird nicht gebildet. Weder durch Fäulniss noch beim Kochen mit Säuren oder Alkalien werden aus dem Glutin Indol, Skatol, Phenole gebildet. Durch Oxydation mit Permanganat erhielt Maly[3]) neben andern Zersetzungsproducten etwas Benzoësäure. Bei dieser Oxydation wird zunächst ebenso wie aus den Eiweissstoffen eine der Oxyprotsulfonsäure entsprechende Substanz gebildet, die mit Aetzbaryt bis 190° längere Zeit erhitzt NH_3, Pyrrol, fette Säure, Leucin, Glutaminsäure neben Benzoësäure liefert.

Wird Leim bei 130° längere Zeit getrocknet, so geht er in einen dem Collagen ähnlichen Körper über, der durch Erhitzen mit Wasser wiederum in gelatinirenden Leim übergeführt werden kann[4]). Das Collagen ist hiernach als Anhydrid des Glutins aufzufassen, wie es auch

---

[1]) Ueber die Reactionen und Zusammensetzung dieser Spaltungsproducte vergl. die Originalarbeit von Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2 S. 299. Ausserdem Klug, Centralbl. f. Physiol. Bd. 4 S. 181. Hier werden diese Spaltungsproducte Glutose und Glutinpepton genannt.

[2]) Horbaczewski, Sitzungsber. d. Wien. Acad. 1879 Bd. 80 II.

[3]) Monatshefte f. Chem. Bd. 10 S. 26.

[4]) Hofmeister, a. a. O.

den Gewichtsverhältnissen entspricht. Hausenblase verhält sich nicht ganz gleich dem Collagen der Warmblüter. Auch das Collagen der Cephalopoden weicht nach Krukenberg[1]) in seinem Verhalten von letzterem ab.

Durch Behandlung mit Salzsäure und Alkohol, nachher mit salpetriger Säure wurde aus Gelatine von Buchner u. Curtius[2]) ein Diazofettsäureester erhalten als gelbes Oel von der wahrscheinlichen Zusammensetzung $CN_2 = C(OH) - COO(C_2H_5)$. Bei der Fäulniss des Leims wurde von Nencki neben andern Körpern eine dem Collidin $C_8H_{11}N$ isomere Base gefunden. Selitrenny[3]) erhielt bei der Zersetzung des Leims durch Bac. liquef. magnus Methylmercaptan, flüchtige Fettsäuren, Phenylpropionsäure, Glycocoll, Leucin, durch die Bacillen des Rauschbrands Methylmercaptan, flüchtige Fettsäuren, Phenylpropionsäure und Phênylessigsäure.

Glutinlösungen zeigen starke linksseitige Circumpolarisation; die Aenderungen der spec. Drehung mit Concentration, Temperatur, Einwirkung von Alkalien etc. bedürfen noch eingehender Untersuchung.

184. Conchiolin[4]), die organische Grundsubstanz der Schalen der Lamellibranchiaten ist unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, nicht verdaulich durch Pepsin oder Trypsin, sehr widerstandsfähig gegen Natronlauge, besonders in älteren Schalen, wird aber doch schliesslich darin aufgelöst; diese Lösung färbt sich gelb. In der Kälte wird das Conchiolin durch concentrirte anorganische Säuren nicht gelöst, in der Wärme ist es auch in verdünnten Säuren löslich. Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure bilden sich viel Leucin und Leucinimid, aber kein Cornikrystallin. Beim Eindampfen mit concentrirter Salzsäure löst sich Conchiolin mit Braunfärbung, giebt Leucin und Leucinimid aber kein Glucosamin. Weder Tyrosin noch Glycocoll wurde mit Säuren erhalten. Das Conchiolin giebt keine den Eiweisskörpern zukommenden Reactionen, aber beim Kochen mit starker Kalilauge Indol. Durch Jod, mit oder ohne Schwefelsäure oder Jodzink tritt nur Gelb- oder Braunfärbung ein. Die Analysen der bei 128° getrockneten Substanz führten zu den Werthen: C 50,70; H 6,76; N 17,75; O 24,79 pCt. Hiernach stellt Krukenberg die Formel auf $C_{30}H_{48}N_9O_{11}$.

Corneïn findet sich in den Gerüsten der Gorgoniden und Antipathiden. Dieselben werden durch kalte verdünnte Salzsäure von an-

---

[1]) Krukenberg, vergleich. physiol. Studien, Heidelberg 1881 5. Abthl. S. 24.
[2]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 19 S. 850.
[3]) Monatsh. f. Chemie Bd. 10 S. 908.
[4]) C. Fr. W. Krukenberg, Zeitschr. f. Biolog. Bd. 22 S. 241.
Krukenberg, vergleich. physiolog. Studien a. a. O. S. 16—24.

organischen Salzen befreit, dann mit peptischer darauf mit tryptischer Verdauungsflüssigkeit bei 38° behandelt. Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure giebt Corneïn einen in dachziegelförmig aufgebauten Krystallblättchen ausgeschiedenen Körper, von Krukenberg Cornikrystallin genannt, der sehr hygroskopisch ist, sich in concentrirter Schwefelsäure nicht löst, sondern Jahre lang darin aufbewahrt werden kann. Das Corneïn ist dem Conchiolin sehr ähnlich, giebt mit roher Salzsäure keine Eiweissreaction, färbt sich mit Millon's Reagens schwach röthlich, enthält etwas Schwefel, kann mit sehr starker Kalilauge eingedampft werden. Hierbei bildet sich etwas Indol und die alkalische Lösung giebt die Biuretreaction wie Peptone.

Die Zusammensetzung des Corneïn bei 120° getrocknet, wurde von Krukenberg[1]) gefunden zu C 48,78; H 5,95; N 17,07; O 28,20 pCt. und hiernach für dasselbe die Formel $C_{30}H_{44}N_9O_{13}$ berechnet.

Spongin[1]) aus Badeschwamm oder andern Schwämmen durch Reinigung mit Aether, Alkohol, Salzsäure und kurze Behandlung mit verdünnter Natronlauge dargestellt, noch mit Kieselnadeln durchsetzt, wird in Alkalien viel leichter zerklüftet und gelöst als Conchiolin oder Corneïn. Auch kaltes Barytwasser löst es bei längerer Einwirkung. Im zugeschmolzenen Glasrohr mit Wasser auf 160° erhitzt löst es sich. In Kupferoxydammoniaklösung schrumpft es zur zerreiblichen Masse. In seiner Zusammensetzung steht es dem Fibroïn nahe. Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure liefert es Glycocoll und Leucin, kein Tyrosin[2]). Es röthet sich nicht mit Millon's Reagens, giebt mit concentrirter Schwefelsäure und Eisessig keine rothe oder violette, sondern bräunliche Färbung, die Biuretreaction liefert violette Färbung.

Fibroïn, dargestellt aus Seide nach der von Städeler[3]) beschriebenen Methode bildet eine weisse faserige Substanz, unlöslich in Kupferoxydammoniak. Es löst sich in concentrirten Säuren oder Alkalien, beim Neutralisiren wird es dann ausgefällt. Beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure giebt es Glycocoll, Leucin und Tyrosin. Mit Millon's Reagens wird Rothfärbung bewirkt und beim Kochen mit concentrirter Salzsäure färbt es sich schön blauviolett, giebt Biuretreaction und schwache Violettfärbung beim Kochen mit einer Mischung von 2 Vol. Eisessig und 1 Vol. concentrirter Schwefelsäure. Nach

---

[1]) Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 17 S. 1845 u. Krukenberg, vergleich. physiol. Studien 5. Abthl. S. 1—16.

[2]) P. Zalocostas, Compt. rend. T. 107 p. 252 erhielt nach Schützenberger's Verfahren etwas Tyrosin.

[3]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 111 S. 12.
Cramer, Journ. f. prakt. Chem. 1865 Bd. 96 S. 76.

Engel*) besteht die organische Grundsubstanz der Brutzellendeckel der Wespen aus Fibroïn.

Spirographin (vergl. Krukenberg, vergleich. physiol. Studien 5. Abth. S. 28).

Proteïde.

185. Die Proteïde werden durch einfache Spaltung bei Einwirkung von Wasser oder Säuren, Alkalien zerlegt in Eiweissstoffe und andere Körper, welche, soweit bekannt, stets stickstoffhaltig sind.

1. Blutfarbstoffe.

Das Protoplasma der rothen Blutkörperchen der Wirbelthiere ebenso die contractile Substanz in gewissen Muskeln von Warmblütern liefern bei der Behandlung mit Wasser oder Aether oder Chloroform Oxyhämoglobin als mehr oder weniger schwierig krystallisirende rothe Farbstoffe. Auch aus dem Blute verschiedener Avertebraten, z. B. des Regenwurms sind Farbstoffe erhalten, welche im optischen Verhalten, Reactionen und Zersetzungen mit den Oxyhämoglobinen übereinstimmen.

Zur Darstellung möglichst reinen Oxyhämoglobins mischt man das defibrinirte Blut mit dem 10fachen Vol. einer Chlornatriumlösung, welche auf 1 Vol. gesättigter Salzlösung 9 Vol. Wasser enthält. (Natriumsulfatlösung kann recht wohl an Stelle der Chlornatriumlösung verwendet werden auch bei Säugethierblut, bietet aber hier keine Vortheile, ist dagegen unbedingt vorzuziehen bei Vogel-, Amphibien- oder Fischblut.) Man lässt 1 bis 2 Tage die Mischung in flachen Glasschalen an einem kühlen Orte stehen, oder beschleunigt den Absatz der rothen Blutkörperchen durch Anwendung der Centrifuge für 2 bis 3 Stunden, giesst die Flüssigkeit vom dicken Blutkörperchenbrei ab, bringt letzteren mit nicht zu viel Wasser in einen Scheidetrichter, giesst fast eben so viel Aether hinzu, schüttelt gut um, jedoch nicht zu heftig, filtrirt die abgelassene dunkelrothe wässerige Lösung schnell, lässt abkühlen auf 0°, mischt sie genau mit $^1/_4$ ihres Vol. Alkohol, der gleichfalls auf 0° erkaltet ist, und lässt die Mischung bei — 2° bis — 10° einen bis mehrere Tage stehen. Meerschweinchen-, Ratten-, Eichhörnchen- und Hunde-Oxyhämoglobinkrystalle bilden sich meist nach dem Schütteln der Blutkörperchen mit Aether so schnell, dass beim nachherigen Filtriren ein meist nicht geringer Theil auf dem Filter sich ausscheidet. Zeigt die mikroskopische Untersuchung, dass dies der Fall ist, so löst man sie mit nicht zuviel Wasser im Wasserbade bei 30—40°, filtrirt

*) Zeitschr. f. Biol. Bd. 27 S. 374.

schnell, lässt auf 0° erkalten, fügt $^1/_4$ Vol. stark abgekühlten Alkohol hinzu und lässt unter 0° stehen. Auf diese Weise werden dann die gebildeten, in der Kälte abfiltrirten und zwischen Fliesspapier abgepressten Krystalle mehrmals umkrystallisirt.

186. Die Krystalle der Oxyhämoglobine sind oft nur mikroskopisch erkennbar, meist mit der Loupe gut erkennbar, selten über 5 mm lang. Die Krystalle des Meerschweinchen- und des Rattenbluts sind Tetraëder und Octaëder, die des Eichhörnchenbluts sechsseitige Tafeln, die des Hunde- und des Pferdeblutes meist lange vierseitige Prismen, die des Gänseblutes dünne rhombische Tafeln. Sie enthalten alle Krystallwasser, dessen Bestimmung Schwierigkeiten bietet. Unter 0° können sie in längerer Zeit im Vacuum getrocknet werden, über 0° zersetzen sie sich beim Trocknen. So lange sie die schöne hellarterielle Farbe besitzen, sind sie unzersetzt.

Die Analysen haben z. Thl. gut übereinstimmende, z. Thl. sehr abweichende Resultate ergeben, aus denen ersichtlich ist, dass verschieden behandelte Stoffe analysirt sind.

	C	H	N	S	O	Fe		
Hundeblutkrystalle . . .	53,85	7,32	16,17	0,39	21,44	0,43	pCt.	Hoppe-Seyler[1])
„ . . .	54,57	7,22	16,38	0,57	20,93	0,34	„	Jaquet[2])
Pferdeblutkrystalle . . .	54,87	6,97	17,31	0,65	19,73	0,47	„	Hoppe-Seyler u. Kossel[3])
„ . . .	54,76	7,03	17,28	0,67	19,81	0,45	„	Otto[4])
„ . . .	54,40	7,20	17,61	0,65	19,67	0,47	„	Bücheler[5])
„ . . .	51,15	6,76	17,94	0,39	23,43	0,34	„	Zinoffsky[6])
Rinderblutkrystalle . . .	54,66	7,25	17,70	0,45	19,54	0,40	„	Hüfner[5])
Meerschweinchenblutkryst.	54,12	7,36	16,78	0,58	20,68	0,48	„	Hoppe-Seyler[1])
Eichhörnchenblutkrystalle	54,09	7,39	16,09	0,40	21,44	0,59	„	„ „ [1])
Schweineblutkrystalle . .	54,17	7,38	16,23	0,66	21,36	0,43	„	Otto[4])
„	54,71	7,38	17,43	0,48	19,60	0,40	„	Hüfner[5])
Gänseblutkrystalle . . .	54,26	7,10	16,21	0,54	20,69	0,43	„	Hoppe-Seyler[1])
Hühnerblutkrystalle . .	52,47	7,19	16,45	0,86	22,50	0,335	„	Jaquet[2])

Die Bestimmungen des Schwefel- und des Eisengehaltes im Pferdeblutoxyhämoglobin haben S 0,44 und Fe 0,39 pCt. ergeben (Hoppe-Seyler), so dass in diesem Oxyhämoglobin auf 1 Atom Eisen 2 Atome Schwefel im Molecüle enthalten sind entsprechend 2 Atomen oder 1 Mol. O_2 als locker von dem Mol. desselben gebundenem Sauer-

---

[1]) Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuch. 1868 Heft 3 S. 370.
[2]) Jaquet, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14 S. 289.
[3]) Ebendas. Bd. 2 S. 149.
[4]) Ebendas. Bd. 7 S. 61.
[5]) Hüfner, Gratulationsschrift an C. Ludwig 1886.
[6]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 16.

stoff, wie die directe Bestimmung ergeben hat: O_2 locker gebunden zu 0,22 pCt.

In ihrer Löslichkeit in Wasser zeigen die Krystalle verschiedener Blutarten erhebliche Verschiedenheiten. Am wenigsten lösen sich die Meerschweinchen- und Rattenblutkrystalle, am leichtesten die der Vögel.

Die in Wasser gelösten Oxyhämoglobine geben, soweit die Untersuchung reicht, ungefähr 156 Cbcm O_2 von 0^0 und 760 mm Druck im Vacuum ab und gehen hierbei über in Hämoglobine, welche in Berührung mit Luft diesen Sauerstoff alsbald wieder aufnehmen, bei abgehaltenem Sauerstoff recht beständige Körper sind, sowohl in Lösung als getrocknet, und bei genügender Concentration im zugeschmolzenen Glasrohr prachtvolle dunkelrothe Krystalle über 1 cm im Durchmesser bilden können. An die Luft gebracht, wandeln sie sich unter Sauerstoffaufnahme alsbald in kleine Oxyhämoglobinkrystalle um von arterieller Färbung.

Die Lösungen des Oxyhämoglobins haben eine feurig blutrothe Farbe, absorbiren am Wenigsten das Licht vom Anfang des Spectrums in Roth bis nahe zur Linie D des Sonnenspectrums; das letzte Viertel des Zwischenraums zwischen C und D, welches an D angrenzt, wird schon stärker absorbirt. Entzieht man der Lösung den locker gebundenen Sauerstoff des Oxyhämoglobins durch einen Strom reinen Wasserstoffgases oder durch das Vacuum oder durch Fäulniss oder reducirende Substanzen, z. B. Schwefelammonium oder ammoniakalische Lösung von Weinsäure und frischbereitetem Zinnchlorür, so wird das Licht zwischen C und D im Spectrum viel stärker absorbirt und hiermit die Lösung selbst viel dunkler im durchfallenden Lichte.

Verdünnt man eine concentrirte Oxyhämoglobinlösung in einem Gefäss mit planparallelen Glasseitenwandungen, so zeigt dieselbe, immer in gleicher Dicke der Schicht untersucht, schnelle Aufhellung bis zur Spectrallinie D, bald tritt dann auch bei weiterer Verdünnung Licht zwischen den Linien E und F im Grün auf; dann breitet sich in der weiter verdünnten Flüssigkeit das Spectrum über die Linie F ins Blau hinein aus, während zugleich, etwa in der Mitte zwischen D und E ein hellgrüner Lichtstreif erscheint, eingeschlossen von zwei sehr starken und beständigen Absorptionsstreifen. Bei noch weiter fortgesetztem Verdünnen entwickelt sich das Spectrum vollständig bis zum Violett, nur die in der Spectraltafel, Fig. 1 No. 1 (§ 191), dargestellten Absorptionsstreifen bleiben noch, nur langsam schwächer werdend, beim Verdünnen bis zum Gehalte von 1 gr Oxyhämoglobin in 10 Liter Lösung deutlich sichtbar, wenn man diese Lösung in einer Flüssigkeitsschicht von 1 cm Dicke im Spectralapparate mit zerstreutem Tageslichte beobachtet. Der näher

an der Linie D liegende Streifen ist dunkler und schärfer begrenzt als der andere und verschwindet schliesslich bei fortgesetzter Verdünnung ein wenig später als der andere.

Lässt man eine passend verdünnte Blutlösung verschlossen einige Zeit stehen, oder fügt man zu ihr einige Tropfen Schwefelammonium, oder Lösung von Stannoammoniumtartrat, so verschwindet alsbald die helle arterielle Färbung, dieselbe wird dunkler und venös, bei ihrer Spectralprüfung ist der helle Zwischenraum zwischen den beschriebenen 2 Absorptionsstreifen verschwunden, die Streifen selbst werden blasser und an der Stelle des frühern hellen Zwischenraums zwischen beiden, also in der Mitte zwischen D und E bleibt ein dunkler Absorptionsstreif mit weniger scharf begrenzten Rändern und beim Verdünnen der Lösung früher verschwindend als bei gleicher Verdünnung der Oxyhämoglobinlösung die beiden Absorptionsstreifen derselben unerkennbar werden. Schüttelt man eine Hämoglobinlösung nur ein paar Secunden mit etwas Luft, so sind sogleich die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins zu sehen und die Lösung ist wieder heller roth; das Hämoglobinspectrum tritt unter Verdunkelung bald wieder ein, wenn noch reducirende Stoffe sich in der Lösung befinden, oder Fäulniss einwirkt.

187. Unter 0 ° völlig getrocknetes Oxyhämoglobin kann ohne Zersetzung auf 100 ° erhitzt werden; sehr geringe Menge Wasser dagegen bedingt allmälige Zersetzung schon bei gewöhnlicher, schneller in höherer Temperatur. In verdünnten wässerigen Lösungen ist Oxyhämoglobin haltbarer als in concentrirter. Wird die Lösung einige Zeit über 80 ° erhitzt, so geht das Oxyhämoglobin zuerst in Methämoglobin, dann unter Wasseraufnahme in Hämatin und coagulirten Albuminstoff über. Durch Alkohol werden Oxyhämoglobinlösungen oder Krystalle des Farbstoffes zunächst gefällt. Der zuerst entstehende rothe Niederschlag ist in Wasser z. Thl. sofort wieder löslich; allmälig (schneller beim Erhitzen) geht die Farbe des Niederschlags in Braun über und hiermit ist die Spaltung in coagulirten Albuminstoff und Hämatin geschehen. In sehr wässerigem Weingeist ist Oxyhämoglobin etwas löslich und bei niederer Temperatur auch in dieser Mischung von Wasser und Alkohol ziemlich beständig. Durch pulveriges Kaliumcarbonat wird es aus concentrirter wässeriger Lösung zunächst ohne Veränderung ausgefällt, wenn die Temperatur niedrig ist. Im Uebrigen sind keine Körper bekannt, welche Fällung des Oxyhämoglobin ohne Zersetzung bewirken. Weder durch basisches Bleiacetat noch durch salpetersaures Silber wird es gefällt, aber beim Stehen in der Lösung bald zersetzt und die Zersetzungsproducte geben dann Fällungen. Alkalien und besonders schnell Säuren bewirken Spaltung, auch von den letzteren mehrere ohne Niederschläge zu geben. Die

Spaltung geschieht um so schneller, 1) je concentrirter die Säure oder die Alkalilösung ist, 2) je mehr davon zugesetzt ist, 3) je concentrirter die Oxyhämoglobinlösung und 4) je höher die Temperatur ist. Dabei bildet sich nur dann ein Niederschlag, wenn der entstehende Albuminstoff in der Flüssigkeit unlöslich ist.

So tritt diese Zersetzung ohne Niederschlag ein bei Einwirkung von Essigsäure, Weinsäure, Kalilauge etc., dagegen entsteht Niederschlag, wenn hinreichend Salpetersäure oder Schwefelsäure zugesetzt würde. Löst man Oxyhämoglobin unter Zusatz einer Spur Na Cl in Eisessig und erhitzt, so fällt fast allein Haemin (vergl. § 147) in meist mikroskopischen Krystallen aus. Durch Aetzammoniak wird Oxyhämoglobin nur sehr langsam gespalten. Bei gewöhnlicher Temperatur halten sich Oxyhämoglobinlösungen besser, wenn etwas Alkalicarbonat zugefügt ist, als wenn sie neutral sind; schon die schwächsten Säuren zeigen baldige Einwirkung, auch Kohlensäure wirkt allmälig zersetzend.

Bei allen diesen Spaltungen entstehen neben Hämatin und coagulirtem Albuminstoff oder Alkalialbuminat oder Acidalbumin noch geringe Mengen von Ameisensäure, Buttersäure und vielleicht noch anderer Säure. Alle diejenigen Salze, besonders schwerer Metalle, welche unter Bildung basischer Verbindungen leicht Säure abgeben, und die löslichen Albuminstoffe coaguliren, zerlegen auch schnell das Oxyhämoglobin, während die neutralen Salze der Alkalien und alkalischen Erden ohne Einwirkung sind (chlorsaure Salze und Nitrite ausgenommen). Von locker gebundenem Sauerstoff vollständig befreites Hämoglobin in wässeriger Lösung bei völliger Abwesenheit von Sauerstoff mit alkoholischen oder wässerigen Lösungen von Säuren oder Alkalien gemischt, geben purpurrothe Lösungen oder Niederschläge. Das purpurrothe Spaltungsproduct, Hämochromogen, welches aus dem Hämoglobin neben Eiweissstoff gebildet wird, verliert in sauren Lösungen leicht seinen Eisengehalt und geht in Hämatoporphyrin über, während es in alkalischen Lösungen bebeständig ist, aber bei Zutritt von Sauerstoff schnell in Hämatin übergeht.

Schwefelwasserstoff wirkt auf Hämoglobin nicht ein, ebensowenig Fäulniss, Pankreasverdauung auch bei jahrelanger Einwirkung, während Oxyhämoglobin von Schwefelwasserstoff zu Schwefelmethämoglobin, von Fäulniss zu Methämoglobin, von Pankreasinfus zu Hämatin und den Zersetzungsproducten der Eiweissstoffe umgewandelt wird. Oxydirende Stoffe in neutraler oder alkalischer oder schwach saurer Lösung bilden aus Oxyhämoglobin Methämoglobin (vergl. § 189). So wirken Nitrite Ferricyankalium, Permanganat; aber auch beim Eintrocknen der Oxy-

hämoglobinlösungen an der Luft über 0° erfolgt die Umwandlung zu Methämoglobin.

Kohlenoxydhämoglobin*).

188. Die COverbindung des Hämoglobin wird sehr leicht erhalten durch Einleiten von Kohlenoxyd in genügend concentrirte Lösungen von Oxyhämoglobin, Erkaltenlassen auf 0°, Zusatz von $\frac{1}{4}$ Vol. Alkohol, vorher gleichfalls auf oder unter 0° abgekühlt, und Stehenlassen der Mischung bei 0° bis — 10° für mehrere Stunden oder Tage. Die sich ausscheidenden Krystalle besitzen dieselben Formen wie diejenigen der Oxyhämoglobinkrystalle, aus denen sie dargestellt sind und enthalten für 0° und 760 mm Druck das gleiche Vol. CO wie die Oxyhämoglobinkrystalle locker gebundenen Sauerstoff enthielten, im Pferdeblut also auf 1 Atom Eisen im COhämoglobin 2 Atome Schwefel und eine Gruppe CO.

Die wässerigen Lösungen von COhämoglobin oder mit CO behandeltem Blut haben nicht die Scharlachfarbe der Oxyhämoglobinlösungen, sondern mehr dem Carmin entsprechende Farbe, absorbiren das blaue Licht weniger als die Oxyhämoglobinlösungen und zeigen bei genügender Verdünnung spectroskopisch untersucht 2 Absorptionsstreifen zwischen den Linien D und E wie Oxyhämoglobinlösungen, jedoch ein wenig von D nach E hin verschoben, so dass der helle Raum, welcher die Linie D vom ersten Absorptionsstreifen trennt, etwas breiter ist als bei den Oxyhämoglobinlösungen.

Das Kohlenoxydhämoglobin widersteht bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff der Fäulniss vollständig, ebenso der Pankreasverdauung. Blut mit CO behandelt ändert sich in verschlossenem Glase in 30 Jahren nicht. Durch längeres Durchleiten von Wasserstoffgas oder Stickstoffgas, noch schneller durch Einleiten von Sauerstoff- oder Stickoxydgas wird das CO ausgetrieben und je nach dem einwirkenden Gase entweder Hämoglobin, oder Oxyhämoglobin oder Stickoxydhämoglobin gebildet.

Unterscheidende Reactionen des Kohlenoxydhämoglobins:

1. Wässerige neutrale Lösungen von COhämoglobin zum Sieden erhitzt, geben ein hellrothes Coagulum, bestehend aus coagulirtem Eiweissstoff und Kohlenoxydhämochromogen. Allmälig wird dieser Niederschlag an der Luft dunkel gefärbt unter Abspaltung des CO und Bildung von Hämatin.

2. Durch starke Natronlauge wird COhämoglobin hellroth gefällt;

---

*) Hoppe-Seyler, Archiv f. pathol. Anat. 1857 Bd. 11 S. 288.
Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1864 No. 52 u. 53, 1865 No. 4 u. 5.
Med. chem. Untersuchungen 1867—70 Heft 2 u. 3.
Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1 S. 131 u. Bd. 13 S. 477.

der Niederschlag besteht aus COhämoglobin, sich zersetzend zu COhämochromogen und Albuminstoff; allmälig an der Luft braun werdend unter Bildung von Hämatin.

3. Lösungen, welche COhämoglobin enthalten, zeigen für lange Zeit keine Aenderung bei Einwirkung von gutem Schwefelammonium und Abhalten zu reichlicher Einwirkung von atmosphärischem Sauerstoff.

4. COhaltiges Blut aus Leichen von mit CO vergifteten Personen (Kohlendunst oder Leuchtgasvergiftung) oder COhämoglobinlösungen in Glasröhren eingeschmolzen lassen noch nach vielen Jahren von der stets eintretenden Fäulniss nicht geändert die spectroskopischen Erscheinungen, nämlich die beiden oben geschilderten Absorptionsstreifen erkennen, und es kann das CO aus diesen Flüssigkeiten mit der Quecksilberpumpe gewonnen und analytisch bestimmt werden nach sehr langer Zeit.

Alkalische Lösungen von COhämochromogen zeigen dieselben spectroskopischen Erscheinungen wie die des COhämoglobin, gehen aber an der Luft allmälig in Hämatinlösungen über, während COhämoglobinlösungen an der Luft allmälig in Oxyhämoglobin- oder Methämoglobinlösungen übergehen.

Stickoxydhämoglobin wird in isomorphen Krystallen aus COHämoglobinkrystalllösungen durch Einleiten von Stickoxyd erhalten und bei genügender Concentration durch Abkühlen auf 0° und Alkoholzusatz gewonnen wie Oxyhämoglobin und COHämoglobin. Weder die Färbung der Krystalle noch die der Lösungen, noch die Stellung der 2 Absorptionsstreifen im Spectrum zwischen D und E zeigen eine Verschiedenheit von Oxyhämoglobin.

Acetylenhämoglobin, von Bistrow und Liebreich durch Einwirkung von Acetylen auf Hämoglobinlösung erhalten, ist wenig beständig.

Methaemoglobin.

189. Das Methämoglobin[1]) ist in seiner procentischen Zusammensetzung vom Oxyhämoglobin wenig oder gar nicht verschieden,[2]) entsteht durch moleculare Umwandlung des Oxyhämoglobins in Betreff der Atomgruppe, welche die locker gebundenen Atome O_2 im Oxyhämoglobin oder das CO im Kohlenoxydhämoglobin enthält. Es bildet sich aus Oxyhämoglobin 1) durch Einwirkung verschiedener oxydirender Stoffe, besonders Ferricyankalium, Nitrit, Permanganat, Ozon, Wasserstoff im Entstehungszustande bei Anwesenheit von freiem Sauerstoff, Wasserstoffhyperoxyd etc., ist aber auch 2) das erste Umwandlungsproduct des

[1]) Jaederholm, Zeitschr. f. Biol. 1884 Bd. 16 S. 1.
Hoppe-Seyler, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2 S. 150 u. Bd. 6 S. 166.
Araki, ebendas. Bd. 14 S. 405.

[2]) Analysen von Otto u. Hüfner, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 65.

Oxyhämoglobins bei Einwirkung schwacher Säuren und entsteht 3) beim Eintrocknen von Blut cder Oxyhämoglobinlösungen an der Luft bei Temperaturen über 0°. Es giebt im Vacuum der Quecksilberpumpe weder Sauerstoff ab noch ein anderes Gas und wird durch Einwirkung schwacher Säuren oder Alkalien gespalten in Hämatin und Albuminstoff.

Durch Einwirkung der Fäulniss bei Abwesenheit von freiem Sauerstoff oder reducirende Substanzen in schwach alkalischer Lösung wird Methämoglobin in Hämoglobin umgewandelt und dann bei Zutritt von freiem Sauerstoff Oxyhämoglobin zurückgebildet. Hierdurch unterscheidet sich Methämoglobin von Hämatin, indem letzteres durch dieselben reducirenden Substanzen, welche aus dem Methämoglobin Hämoglobin bilden (z. B. Schwefelammonium), in Hämochromogen umgewandelt wird.

Lösungen von Methämoglobin, die nicht stark alkalisch, sondern neutral oder schwach sauer sind, oder wenig Alkalicarbonat enthalten, zeigen bei der spectroskopischen Untersuchung einen breiten Absorptionsstreifen im Roth zwischen den Linien C und D, näher an C als an D und eine diffuse Absorption zwischen D und F. Bei etwas stärkerem Zusatz von Aetzalkali verschwindet der breite Absorptionsstreif im Roth. Ist dem Methämoglobin noch Oxyhämoglobin in der Lösung beigemischt, so sind die Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins zwischen D und E noch mehr oder weniger deutlich zu sehen und verändern ihre Stellung entsprechend, wenn die Lösung mit CO behandelt wird. Oxyhämoglobinkrystalle verwandeln sich unter dunkelbrauner Färbung an der Luft in Methämoglobin, während die Flächen dieser Pseudomorphosen noch gut spiegelnd bleiben können. Diese Pseudomorphosen gestatten noch ein Umkrystallisiren, wenn man durch Fäulniss bei Abhaltung von Sauerstoff die Reduction zu Hämoglobin herbeiführt, dann auf 0° abkühlt, die Flüssigkeit an die Luft bringt, mit $^1/_4$ Volumen Alkohol versetzt und unter 0° stehen lässt; man erhält auf diesem Wege wieder reine Oxyhämoglobinkrystalle.

Auch im Organismus bildet sich Methämoglobin in Extravasaten in Struma- und anderen Cysten, ferner im Blute, den Nieren, im Harne durch Pyrogallol, gallensaure Salze, Nitrit und viele andere Stoffe, in den Blutstrom eingebracht, Zerstörung von Blutkörperchen bei Verbrennung der Haut etc.

Schwefelmethämoglobin.

190. entsteht aus Oxyhämoglobin nicht aus Hämoglobin durch Einwirkung von Schwefelwasserstoff*). Alkalisches Blut oder die schwach

*) Araki, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14 S. 412.

alkalischen Oxyhämoglobinlösungen, mit wenig SH_2 behandelt, werden zunächst zu Hämoglobinlösungen reducirt, leitet man aber H_2S und O_2 (oder atm. Luft) gleichzeitig ein, oder wirkt H_2S auf reine neutrale Oxyhämoglobinlösung, so bildet sich unter starker Aenderung der Färbung (Grün in dünnen, Roth in dickeren Schichten) Schwefelmethämoglobin aus. Die grüne oberflächliche Färbung faulender blutiger Organe (Bauchdecken der Leichen etc.) rührt von Schwefelmethämoglobin her. Dieser Körper ist ausgezeichnet durch 2 Absorptionsstreifen im Roth, die bei der spectroskopischen Prüfung ins Auge fallen. Der eine beginnt noch ein wenig vor der Linie C, fasst dieselbe in seinen Rand ein, der andere nimmt ungefähr die Mitte zwischen C und D ein; zwischen beiden Streifen ist aber kein helles Licht zu sehen, sondern eine Beschattung, welche beide dunklere Streifen mit einander verbindet. In der Spectralgegend zwischen D und E ist auch nach sehr anhaltender Behandlung mit H_2S und Luft noch das Paar der Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins zu sehen, welche als solche dadurch erkannt werden, dass sie auf Einwirkung von Schwefelammonium verschwinden und nur der eine characteristische Hämoglobinstreif gefunden wird; nach kurzem Schütteln mit Luft kehren die beiden Oxyhämoglobinstreifen zurück. Lässt man starke Natronlauge auf Schwefelmethämoglobin bei gewöhnlicher Temperatur einwirken, so verschwindet der Streif an der Linie C nicht, wohl aber der Streif mitten zwischen C und D. Erhitzt man die Lösung dann unter Zusatz von etwas Schwefelammonium, so verschwinden alle Absorptionsstreifen im Roth und es sind allein die schönen Absorptionsstreifen des Hämochromogens zu sehen. Diese Spectralumwandlungen beweisen, dass durch Erwärmen in stark alkalischer Lösung der Schwefel aus der Verbindung herausgelöst und Hämochromogen gebildet wird.

Nachweis von Hämoglobin, Oxyhämoglobin, Methämoglobin, Hämatin, Hämochromogen.

191. Die An- oder Abwesenheit von Oxyhämoglobin in wässerigen Lösungen ist mit grosser Schärfe selbst bei bedeutender Verdünnung nachzuweisen durch die sehr eigenthümlichen Absorptionserscheinungen, welche das Spectroskop in den verschiedenen Abtheilungen des Spectrums beobachten lässt, und die characteristischen Veränderungen, welche dieselben unter der Einwirkung bestimmter chemischer Stoffe erleiden. Die in Fig. 1 dargestellten Absorptionsstreifen in der angegebenen Stellung zu den hauptsächlichsten leicht erkennbaren Linien des Sonnenspectrums veranschaulichen die Bilder, welche die spectroskopische Untersuchung zur Beobachtung bringt.

No. 1 zeigt die beiden Absorptionsstreifen des Oxyhämoglobins

im Gelb und Gelbgrün zwischen den Linien D und E, wie sie bei starker Verdünnung reiner Oxyhämoglobinlösungen oder sehr dünnen Schichten von Blut gefunden werden.

No. 2 giebt die Darstellung des ziemlich breiten Absorptionsbandes

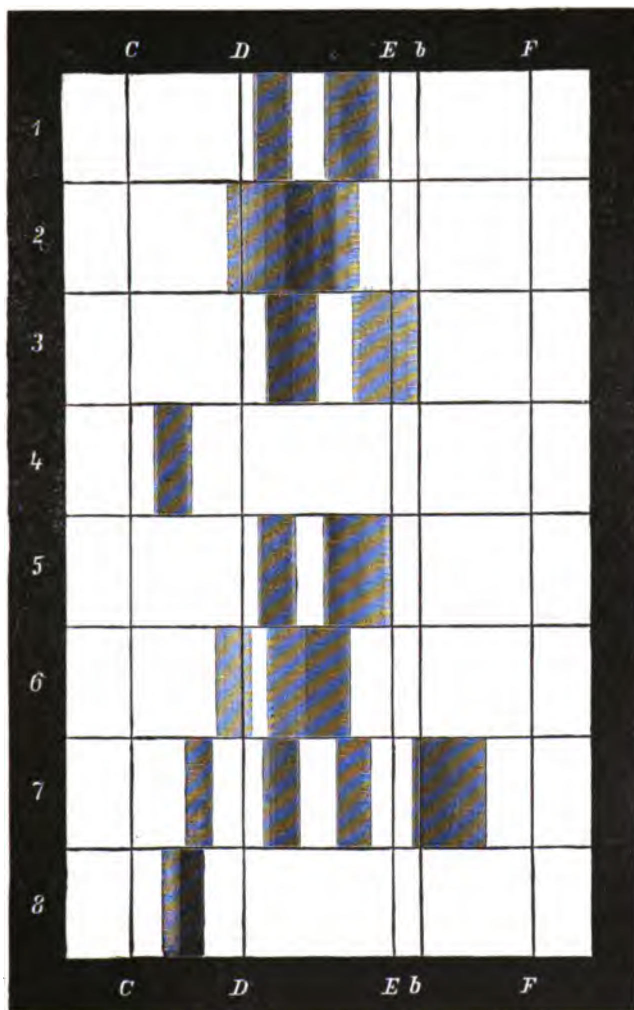


Fig. 1.

mit verwaschenen Rändern, welches in Hämoglobinlösungen beobachtet wird, wenn Oxyhämoglobin gar nicht zugegen ist. In sehr verdünnten Lösungen ist nur der dunkelste Theil des Absorptionsstreifens erkennbar.

No. 3. Absorptionsspectrum des Hämochromogens in alkalischer Lösung gleichfalls bei sehr starker Verdünnung.

No. 4. Spectrum des Methämoglobins in neutraler oder schwachsaurer Lösung bei mässiger Verdünnung, ebenso des Hämatins in schwefelsäurehaltigem Alkohol.

No. 5. Spectrum des COhämoglobins oder des COhämochromogens in sehr verdünnter Lösung.

No. 6. Absorptionsstreifen des Hämatoporphyrins in sehr verdünnter saurer Lösung.

No. 7. Spectrum desselben Farbstoffs in nicht zu verdünnter alkalischer Lösung.

No. 8. Spectrum des Schwefelmethämoglobins in neutraler Lösung.

Oxyhämoglobin- und Hämoglobinlösungen werden weder durch neutrales noch durch basisches Bleiacetat auch nicht nach Hinzufügen von NH_3 gefällt, während Hämatin, Methämoglobin, Hämatoporphyrin durch diese Reagentien gefällt werden, wenn sie vorsichtig zugesetzt werden und Ueberschuss vermieden wird. Sehr zahlreiche andere gefärbte Stoffe können auf diesem Wege aus den Lösungen, welche Oxyhämoglobin enthalten, entfernt und ein selbst geringer Oxyhämoglobingehalt in solchen Mischungen nach schnellem Abfiltriren des Niederschlags noch erkannt werden.

Das Verhalten der Oxyhämoglobinlösungen gegen CO, gegen Schwefelammonium (in nicht bleihaltiger Lösung), die Bildung des Hämochromogens durch Einwirkung von Natronlauge und etwas Schwefelammonium in der Wärme, des COhämochromogens aus dem COhämoglobin bei Einwirkung von Natronlauge und Schwefelammonium in der Wärme auf letzteres geben unverkennbare Beweise über die An- oder Abwesenheit der Hämoglobinverbindungen.

Oxyhämocyanin und Hämocyanin. Aus dem Blute der Arterie von Octopus erhielt Fredericq*) Oxyhämocyanin als einzigen albuminartigen Körper, der wie das Oxyhämoglobin durch Evacuiren zerlegt werden kann in freiwerdenden Sauerstoff und eine farblose Substanz, Hämocyanin genannt. Das Oxyhämocyanin sieht in Lösung blau aus, bildet getrocknet eine amorphe, glänzende, blauschwarze Masse, gerinnt in Lösung bei 68—69° und wird aus dem Cephalopodenblut durch Dialyse abgetrennt. Durch Salpetersäure oder Salzsäure wird der Farbstoff gespalten in freien Eiweissstoff und eine reichlich Kupfer enthaltende farbige Substanz.

Aehnliche oder identische Farbstoffe gewann Fredericq aus dem Blute von Crustaceen (z. B. von Hummer und Krabben), auch von einigen Gastropoden (z. B. Arion helix).

---

*) Bull. de l'acad. roy. de Belgique. Sér. 2 T. 47 No. 4.

Nucleoalbumine und ihre nächsten Spaltungsprodukte (Nucleïne, Nucleïnsäuren, Paranucleïne).

192. Es ist seit längerer Zeit bekannt, dass einige verbreitet vorkommende Albuminstoffe nicht unzersetzt phosphorfrei erhalten werden können, ohne dass eine Beimischung von Lecithin die Ursache des Phosphorgehalts wäre. Das Vitellin aus dem Eidotter (§ 166), das Caseïn aus der Milch (§ 171), die Verbindungen der Nucleïne mit Eiweisskörpern, wie sie in den Zellkernen vorkommen u. a. m. gehören hierher. Werden sie mit künstlichem Magensaft verdaut, so wird der grösste Theil der Substanz zu Propepton u. s. w. gelöst, während ein phosphorreicher Körper ungelöst zurückbleibt[1]). Diese phosphorhaltigen Proteïde werden von Hammarsten unter dem Namen Nucleoalbumine zusammengefasst, während Kossel diesen Namen auf die in den Zellkernen enthaltenen Verbindungen von Nucleïnen mit Eiweisskörpern beschränkt und diese letzteren den Vitellinen und Caseïnen, welche sich in ihren Spaltungsprodukten von jenen unterscheiden, gegenüberstellt.

Nucleoalbumine (im engeren Sinne, Kossel), in vielen Zellkernen z. B. in den Hefezellen enthalten, sind in alkalischer Flüssigkeit z. Th. löslich, z. Th. quellen sie zu einer zähen, schleimigen Masse, welche durch Säuren gefällt wird. Durch Pepsin-Salzsäure werden sie zerlegt in peptonartige Körper und Nucleïne[2]). Die Nucleïne z. Th. als Nucleoalbumine z. Th. wohl auch frei in den Zellkernen enthalten, sind nicht löslich, nur wenig quellbar in Wasser, unlöslich in Sulfatlösungen, sehr quellbar und zu schleimiger, glasiger, cohärenter Masse zusammenfliessend in NaCl lösungen, unlöslich in verdünnten Säuren, leicht löslich in Aetzalkalilösungen, aber auch leicht durch Alkalilösungen zersetzbar. Sie nehmen aus wässerigen oder schwach alkoholischen Lösungen zahlreiche und sehr verschiedenartige Farbstoffe auf und halten sie beim Waschen mit Wasser fest, z. B. Jod, Carmin, werden beim Kochen mit Wasser ebenso bei Behandlung mit künstlichem Magensaft

---

[1]) Lubavin, Med. chem. Untersuchungen, herausgeg. von Hoppe-Seyler, 1870 Heft 4 S. 463.
Miescher, ebendas. Heft 4 S. 441, 502.
Derselbe, Verhandl. der naturforsch. Gesellsch. zu Basel 1874 Bd. 6 S. 138.
Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 152 und Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abthlg. 1891 S. 181 u. bei Lilienfeld, ebendas. 1892 S. 129.
Hammmarsten, Lehrb. d. physiol. Chemie. 1891 S. 12, 19.

[2]) Miescher, a. a. O., Hoppe-Seyler, Physiol. Chemie Bd. 1 S. 34.
Plósz, Medic. chem. Untersuch. v. Hoppe-Seyler Bd. 4 S. 461.
Kossel, a. a. O.

schwer angegriffen. Sie sind unlöslich in Alkohol, Aether, Chloroform etc. In alkalischer Lösung zerlegen sie sich in Eiweisskörper und Nucleïnsäuren[1]). Durch Ansäuern mit Essigsäure kann dann der Eiweisskörper ausgeschieden werden und aus der durch Absetzen und Filtriren abgetrennten Flüssigkeit wird durch Zusatz von Salzsäure bis zum Gehalt von 3 p. M. HCl und Hinzufügen des gleichen Vol. Alkohol, der gleichfalls 3 p. M. HCl enthält, die Nucleïnsäure gefällt. Der Niederschlag wird mit 50procentigem Alkohol, der 0,3 pCt. HCl enthält, verrieben und filtrirt, dann mit Alkohol und Aether gewaschen und bei mässig erhöhter Temperatur getrocknet. Die Reinigung der Nucleïnsäure geschieht durch Lösen in Wasser unter Zusatz von wenig Ammoniak, Ansäuern der Lösung mit Essigsäure, Filtriren, Fällung der klaren Lösung mit Salzsäure, bis zu 0,3 pCt. Gehalt zugefügt, und mit gleichem Vol. Alkohol von gleichem HCl-gehalt[2]).

Nucleïnsäure mit Gehalt von über 9 pCt. Phosphor wurde zuerst dargestellt von Miescher[3]) und die Zusammensetzung $C_{29}H_{49}N_9P_3O_{22}$ gefunden. Kossel[4]) erhielt bei Nucleïnsäuren anderer Herkunft die Zusammensetzung $C_{25}H_{36}N_9P_3O_{20}$ oder $C_{17}H_{26}N_6P_2O_{14}$. Sie sind, wie angegeben, aus schwach alkalischer Lösung durch Ansäuern mit Essigsäure nicht fällbar, wohl aber mit Salzsäure und Alkohol. Sie bilden weisse in Alkohol und Aether unlösliche Pulver, in reinem Zustande schwefelfrei, aber stickstoffhaltig. Sie fällen, wenn in saurer Lösung Eiweissstoffe[5]) und geben damit Niederschläge, welche sich wie Nucleïne verhalten, vielleicht wirkliche künstliche Nucleïne sind.

Die Nucleïnsäuren werden durch Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure gespalten[6]) in Phosphorsäure, verschiedene organische Stoffe (Nucleïnbasen), unter denen besonders reichlich sich gefunden haben Guanin und Adenin, einen phosphor- und stickstoffhaltigen, durch neutrales Bleiacetat fällbaren und einen in alkalischer Lösung Kupferoxyd reducirenden, durch basisches Bleiacetat fällbaren Körper. Diese zuletzt bezeichnete Substanz scheint den Kohlehydraten zuzugehören.

L. Liebermann hält die Nucleïne und Nucleïnsäuren für Salzver-

---

[1]) R. Altmann, Arch. f. Anat. u. Physiol., physiol. Abthlg. 1889 S. 525.

[2]) Altmann, a. a. O. das Nähere der Reinigung.

[3]) a. a. O.

[4]) a. a. O.

[5]) Altmann, a. a. O.

[6]) Kossel, Verhandl. d. physiol. Gesellsch. zu Berlin 6. Febr. 1890.

bindungen der Metaphosphorsäure mit Albuminstoffen, doch ist die Begründung dieser Ansicht noch nicht sicher[1]).

Zu den Nucleoalbuminen im engern Sinne gehören auch die Nucleohistone. Unter diesem Namen beschreibt Lilienfeld[2]) eine Gruppe von Substanzen, welche im Thierkörper sehr verbreitet zu sein scheinen; sie wurden in den Leukocyten der Lymph- und Thymusdrüsen, in den Milzzellen und den Hodenzellen gefunden und sind offenbar auch in den Vogelblutkörperchen vorhanden. Zur Darstellung wird der Kaltwasserauszug von Kalbsthymus- oder Lymphdrüsen centrifugirt, filtrirt und mit Essigsäure ausgefällt. Der Niederschlag wird in verdünnter Sodalösung gelöst, wieder gefällt, mit essigsäurehaltigem Wasser, kaltem und heissem Alkohol und Aether behandelt. Das Nucleohiston aus Leukocyten ist in Wasser löslich, ebenso in überschüssiger Mineralsäure, in Alkalien und Neutralsalzen; es coagulirt in neutraler oder schwach alkalischer Lösung in der Hitze, zersetzt Wasserstoffsuperoxyd und hat die konstante Zusammensetzung C 48,41; H 7,21; N 16,85; P 2,425; S 0,702. Beim Behandeln mit Salzsäure, sowie mit Kalkwasser spaltet es sich in Histon (§ 174) und ein in überschüssiger Salzsäure und verdünnten Neutralsalzlösungen lösliches Nuclein, Leuconuclein genannt, welches weiter in Eiweiss und Leukonucleinsäure zerlegt werden kann.

Ichthulin, zuerst von Valenciennes und Frémy[3]), dann in reinem Zustande von Walter[4]) durch Ausfällen des mit Aether von Fett befreiten Rogenextraktes der Karpfeneier mit Wasser und CO_2, Abfiltriren des Niederschlags, Behandeln des Rückstandes mit Alkohol und Aether gewonnen, stellt ein Vitellin dar von der Zusammensetzung C 53,52; H 7,71; N 15,64; S 0,41; P 0,43; Fe 0,10. Frisch gefällt löst es sich in verdünntem Ammoniak oder Natronlauge, in verdünnter Salzsäure oder Essigsäure leicht zu klaren Flüssigkeiten. Verdünnte Salzlösungen bewirken vollständige, aber schwach opalescirende Lösungen, aus welchen das Vitellin beim Sättigen mit dem betreffenden Salz mehr oder weniger vollständig abgeschieden wird; auch durch starkes Verdünnen mit Wasser und Einleiten von CO_2 wird es aus diesen Lösungen ausgeschieden. Beim längeren Liegen unter Wasser verliert es seine

---

1) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 21 S. 598.
Centralbl. f. d. med. Wiss. 1889 S. 210, 497.
Altmann, a. a. O. S. 534.

2) Verhandl. d. physiol. Ges. zu Berlin 1891—1892 No. 11 u. 16.

3) Compt. rend. T. 38 p. 471 ff., vergl. auch Gobley, Journ. de pharm. et de chim. III. série T. 17 p. 401.

4) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15 S. 477.

Löslichkeit in Salzlösungen. Bei der Verdauung mit Pepsinsalzsäure zerfällt es in Eiweissstoff, einen noch nicht näher bekannten phosphorhaltigen Körper und Paranucleïn.

Paranucleïne, aus Vitellinen und Caseïnen[1]) durch Verdauung mit Pepsinsalzsäure erhalten, stellen leicht zersetzbare Substanzen von nicht constanter Zusammensetzung dar. Sie stimmen im hohen Phosphorgehalt (2—3 pCt.) und in den allgemeinen Reactionen mit den Nucleïnen überein und wurden auch früher für Nucleïne gehalten. Unter der Einwirkung von Alkalien zerfallen sie in Eiweiss und Paranucleïnsäuren, mit Säuren gekocht liefern sie keine Nucleïnbasen (Unterschied von den Nucleïnen), wohl aber gelang es aus dem Paranucleïn aus dem Ichthulin auf diese Weise ein Kohlehydrat abzuspalten.

Hämatogen ist von Bunge[2]) eine Verbindung genannt, welche im Eidotter enthalten ist, im Verhalten den Nucleoalbuminen gleicht und Eisen im Oxydzustande in organischer Verbindung enthält. Wird Eidotter mit Alkohol und Aether extrahirt und der ungelöste Rückstand mit künstlichem Magensaft verdaut, so bleibt ein Nucleïn ungelöst zurück von der Zusammensetzung C 42,11; H 6,08; N 14,73; P 5,19; S 0,55; Fe 0,29; O 31,05 pCt. Dasselbe wird von Ammoniak gelöst und auf Zusatz von etwas Schwefelammonium tritt zunächst keine Färbung ein. Nach einiger Zeit wird die Lösung grün, und ist am folgenden Tage schwarz und undurchsichtig, indem das Eisen allmälig abgespalten und in Schwefeleisen verwandelt wird. Durch Salzsäure wird das eisenhaltige Nucleïn langsam, aber um so schneller gespalten, je concentrirter die Säure ist; zugefügtes Ferrocyankalium färbt die Flüssigkeit allmälig blau, Ferricyankalium nicht. Nach Bunge's Untersuchungen entsteht aus dem Hämatogen der Blutfarbstoff.

Mucine.

193. Die Mucine[3]) sind Proteïde, welche bei dem Erhitzen mit verdünnter Schwefelsäure oder Salzsäure gespalten werden in Albuminstoffe und Körper, die Kupferoxyd in alkalischer Lösung reduciren. Diese letzteren Spaltungsproducte sind stickstoffarm oder stickstofffrei; und dementsprechend enthalten auch die Mucine selbst weniger Stickstoff als die Eiweisskörper. Sie zeigen alle saure Reaction, die neben den

---

1) Lubavin, a. a. O., Ber. d. deutsch. chem. Ges. Bd. 10 S. 2237 (Refer.) Walter, a. a. O.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 49.
Bunge, Lehrbuch d. physiol. u. pathol. Chemie 2. Aufl. S. 91. 1889.

3) Hammarsten, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 36 S. 373.
Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 163.

Eiweissstoffen gebildeten Spaltungsproducte sind höchst wahrscheinlich den Kohlehydraten zuzurechnen, weil mehrere der durch Säuren und durch Alkalien aus den Zuckerarten, z. B. Glucose gebildeten Zersetzungsproducte auch aus ihnen erhalten werden.

1. Mucin der gl. submaxillaris wird durch Wasser aus der fein zerhackten Drüse extrahirt, filtrirt, das Filtrat mit soviel starker Salzsäure vorsichtig versetzt, dass die Mischung 1,5 p. M. HCl enthält. Das hierbei zunächst gefällte Mucin löst sich beim Umrühren wieder auf, wird dann aber bei baldigem Zusatz von 2 bis 3 Vol. Wasser gefällt. Es wird durch Abgiessen oder Filtration abgetrennt, wieder in 1,5 p. M. HCl gelöst und durch Wasserzusatz gefällt, mit Wasser gut gewaschen, mit Alkohol und Aether behandelt, getrocknet. Es bildet bei der Fällung zähe gallertartig schleimige Massen, nach dem Trocknen weisses bis graues Pulver und enthält C 48,84; H 6,80; N 12,32; S 0,84; O 31,20 pCt.

Die Lösungen von diesem Mucin in Wasser mit ein wenig Alkali (in reinem Wasser löst es sich nicht), werden durch Essigsäure gefällt und im Ueberschuss von diesen Säuren nicht gelöst. Enthält die Lösung Na Cl oder andere neutrale Salze, so wird der Niederschlag gallertig oder bleibt ganz aus. Diese Mischung wird durch Gerbsäure gefällt. Durch verdünnte Alkalien auch durch Kalkwasser wird dies Mucin leicht verändert. Landwehr erhielt aus ihm das thierische Gummi (§ 60).

2. Mucin aus Schleimgewebe ist dargestellt 1) aus dem Nabelstrang von Jernström[1]) in der Weise wie sie für das Mucin der Submaxillaris angegeben ist; das erhaltene Präparat stimmte in den Eigenschaften mit letzterem überein. 2) aus Sehnen von Loebisch[2]). Die zerkleinerten Sehnen werden mit Kochsalzlösung extrahirt, gut mit Wasser gewaschen, dann mit Kalkwasser ausgezogen, filtrirt, das Filtrat mit Essigsäure gefällt, die Lösung in Kalkwasser und Fällung durch Essigsäure wiederholt, dann mit Wasser, Alkohol, Aether ausgewaschen. Zusammensetzung C 48,30; H 6,44; N 11,75; S 0,81; C 32,70 pCt. Das Verhalten und die Zusammensetzung entsprechen ziemlich gut dem Submaxillarmucin, aber das Sehnenmucin wird durch Kalkwasser nicht leicht verändert. Ueber das aus dem Sehnenmucin gewonnene Kohlehydrat siehe § 60.

3. Mucine der Schnecken. Das Mantelmucin auf Reizung der Manteloberfläche des Thiers abgeschieden, wenig löslich in Wasser, löslich in Wasser mit 0,1 pCt. Aetzkali und durch Essigsäure im Ueberschuss

---

[1]) Maly, Jahresber. d. Thierchemie 1880 Bd. 10 S. 34.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 40.

fällbar. Das ursprüngliche Secret giebt mit Essigsäure einen Niederschlag, der in verdünntem Alkali fast unlöslich ist, wird aber allmälig durch Alkali löslich. Die ursprüngliche Substanz scheint bei der Alkaliwirkung erst in das Mucin überzugehen. Die procentische Zusammensetzung zeigt keine Verschiedenheit beider.

	C	H	N	S	
Mucinogen	50,30	6,84	13,62	1,71	pCt.
Mucin	50,34	6,84	13,67	1,79	„

Auch in Wasser verändert sich das Mucin allmälig. Durch 10 bis 15 procentige Kalilauge erhält man ein stickstofffreies Kohlehydrat, welches beim Kochen mit verdünnter Schwefelsäure einen Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirenden Körper liefert (siehe § 60).

Das Fussmucin der Schnecken von derselben Zusammensetzung wie das Mantelmucin giebt Trübung bei der Neutralisation oder Ansäuern der Na Clhaltigen Lösung mit 0,1 pCt. Aetzkali mittelst Essigsäure.

Glycoproteïd C 46,99; H 6,78; N 6,08; S 0,62; P 0,47 pCt. ist auch in überschüssiger Essigsäure unlöslich, giebt bei Behandlung mit Aetzkali Albuminat und das linksdrehende Sinistrin $2(C_{12}H_{20}O_{10}) + H_2O$. Letzteres mit verdünnter Säure gekocht liefert einen rechtsdrehenden süss schmeckenden Körper, wohl einen Zucker (siehe § 60).

4. Pseudomucin (oder Metalbumin)[1]) gerinnt nicht beim Kochen, wird von Alkohol gefällt, aber nachher in Wasser wieder gelöst, giebt mit Essigsäure Trübung aber keine gute Fällung, reducirt an sich mit Natronlauge und Kupfersulfat erhitzt das Kupferoxyd nicht zu Oxydul, wohl aber nach dem Kochen mit 5 procentiger Salzsäure (vergl. auch § 60). Die Zusammensetzung ist gefunden zu C 49,44 — 50,05; H 7,11 — 6,84; N 10,26 — 10,30; S 1,25; O 31,54; Asche 1,1—1,4 pCt. Es giebt mit Gerbsäure dickflüssige Fällung, mit Essigsäure und Ferrocyankalium ebenso, mit Salpetersäure dickflüssige opalisirende Masse, mit basischem Bleiacetat flockigen im Ueberschuss des Fällungsmittels löslichen Niederschlag. Millon's Reagens giebt rothbraune Färbung.

Die Pseudomucin enthaltenden Massen (aus Ovarialcysten) sind stets sehr zähe fadenziehende, weissliche, schleimige Substanzen, kaum flüssig; durch Alkohol werden sie faserig gefällt.

Das Metalbumin von Scherer[2]) ist mit dem Pseudomucin iden-

---

[1]) Hammarsten, Zeitschr. f. physiol. Chem. 1881 Bd. 6 S. 194. Hier auch die Literatur.

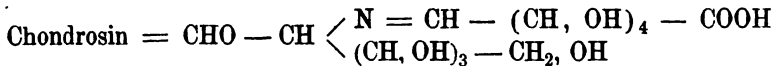
[2]) Scherer, Verhandl. d. phys. medic. Gesellsch. in Würzburg 1852 Bd. 2 S. 214. Sitzungsber. dieser Gesellsch. 1864—65.

tisch, sein Paralbumin dagegen ist ein Gemenge von Pseudomucin und Albuminstoffen.

Knorpel, Chondroïtinschwefelsäure, Chondroïtin, Chondrosin.

194. Von Joh. Müller ist zuerst beobachtet, dass gereinigte Knorpelsubstanz beim Kochen mit Wasser gelöst wird, wenn auch sehr langsam, und eine beim Erkalten gelatinirende Lösung giebt, welche in ihrem Verhalten gegen Mineralsäuren, Essigsäure, Alaunlösung anderes Verhalten zeigt als das aus dem Bindegewebe beim Kochen mit Wasser erhaltene Glutin. Er nannte die durch Kochen mit Wasser aus dem Knorpel gelöste Substanz Chondrin. Die von Boedecker gemachte Beobachtung, dass bei dem Kochen von Knorpel mit verdünnter Säure eine Kupferoxyd in alkalischer Lösung reducirende Substanz erhalten wird, führte zur Vermuthung, dass bei der Spaltung der Knorpelsubstanz ein den Kohlehydraten zugehöriges Spaltungsproduct erhalten werde. Mörner[1]) erkannte dann das Vorhandensein einer gepaarten Schwefelsäure in der Knorpelsubstanz.

Nach den Untersuchungen von Schmiedeberg[2]) enthält die Knorpelsubstanz leicht spaltbare Verbindungen von Eiweisskörpern und wohl auch glutingebender Substanz mit Chondroïtinschwefelsäure. Diese Säure ist wiederum leicht zerlegbar in Schwefelsäure und Chondroïtin; das Chondroïtin wird durch Kochen mit verdünnter Säure gespalten unter Bildung von Chondrosin und Essigsäure. Das Chondrosin darf angesehen werden als eine Verbindung von Glucuronsäure und Glucosamin.



$$\text{Chondrosin} = CHO - CH \begin{cases} N = CH - (CH, OH)_4 - COOH \\ (CH, OH)_3 - CH_2, OH \end{cases}$$

Zur Darstellung dieser Körper (die Einzelheiten derselben sind in der Beschreibung von Schmiedeberg nachzusehen) wird durch Verdauung des sehr reinen Knorpels der Nasenscheidewand vom Schwein (nach möglichster Zerkleinerung) mit frischem künstlichen Magensaft von mindestens 0,3 pCt. HClgehalt die Verbindung der Eiweissstoffe und leimgebenden Substanz gelöst und diese Stoffe peptonisirt. Dann wird in stark alkalischer Lösung, am Besten nach Zusatz von Kupferacetat, die basische Verbindung von chondroïtinschwefelsaurem Kalium, oder die Verbindung mit Kupferoxydkali durch gemessenen Alkoholzusatz gefällt und von den Peptonen des Glutins und der Eiweissstoffe befreit.

[1]) Skandinav. Arch. f. Physiol. 1889 Bd. 1 S. 210.

[2]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. 28 S. 355—405. Hier ist die eingehende Schilderung der Darstellung und der Trennung der Chondroïtinschwefelsäure und ihrer Verbindungen nachzusehen. Auch die Literatur ist umfassend.

Diese Trennung ist langwierig durch Wiederholung der Lösungen und Fällungen und ein Theil der gepaarten Schwefelsäure wird gespalten und dem Niederschlag leicht Chondroïtinkalium beigemengt.

Die freie Chondroïtinschwefelsäure ist in Wasser leicht löslich und wird aus dieser Lösung durch Alkohol nicht gefällt, wohl aber durch in die Lösung eingesetzte Stücke von Knochenknorpel, Leim, Eiweiss aufgenommen in lockere Verbindung. Sie hat die Zusammensetzung $C_{18}H_{27}NSO_{17}$ und geht bei der Spaltung unter Aufnahme von 1 Mol. Wasser über in Chondroïtin $C_{18}H_{27}NO_{14} + SO_4H_2$.

Das reine Chondroïtin wird aus chondroïtinschwefelsaurem Barium oder dem Bleisalz erhalten durch Ausfällen mit Schwefelsäure, nachheriges Stehenlassen nach Zusatz von Salzsäure, Stehenlassen an einem warmem Orte längere Zeit bis zur völligen Abspaltung der Esterschwefelsäure. Fällung und Waschen mit starkem siedenden Alkohol. Das Chondroïtin ist weiss, amorph, bröckelig, bildet beim Verdunsten der wässerigen Lösung eine dem arabischen Gummi ähnliche glasige Masse, reducirt in alkalischer Lösung Kupferoxyd nicht, verbindet sich wie eine Säure mit Metallen. Durch Kochen mit verdünnter Schwefel- oder Salzsäure wird es unter Bildung von Chondrosin zersetzt. Die Lösung nimmt bei 2—3 pCt. Säuregehalt mehr und mehr dunkele Färbung an. Benutzt man verdünnte Salpetersäure für diese Spaltung, so bleibt die Lösung farblos. Die Salpetersäure zersetzt hierbei das Chondrosin nicht, wohl aber seine Zersetzungsproducte.

Bei der Einwirkung von Barythydrat bildet sich aus dem Chondrosin zunächst Glucuronsäure, die dann weiter zerfällt unter Bildung zweier zweibasischen Säuren, von denen die eine mit der Glucuronsäure isomer ist, während die andere das Barytsalz $C_5H_6BaO_7$ ergab und als Trioxyglutarsäure aufgefasst werden kann. Daneben wird eine dritte, Chondronsäure genannte einbasische Säure $C_4H_8O_5$ gebildet.

Das Chondrosin ist wie das Chondroïtin und die chondroïtinschwefelsauren Salze nur amorph erhalten; es reducirt in alkalischer Lösung Kupferoxyd erst beim Erhitzen, aber etwas reichlicher als Glucose unter gleichen Verhältnissen, zeigt rechtsseitige Circumpolarisation, in verdünnter Lösung $(\alpha)_D = +42{,}0^{\circ}$.

Die Knorpel in verschiedenen Organen der höheren Thiere und auch der übrigen Wirbelthiere und Avertebraten zeigen manche Verschiedenheiten, auf welche J. Müller schon aufmerksam gemacht hat. Nach Krukenberg geben die Knorpel der Cephalopoden einen von dem Glutin der Wirbelthiere etwas verschiedenen Leim beim Kochen mit Wasser. Es bleibt hier für die Specialuntersuchung noch ein weites Feld.

Lösliche Fermente oder Enzyme.

Pepsin.

195. Zur Gewinnung eines möglichst reinen und sehr wirksamen Pepsins wird die abpräparirte Magenschleimhaut nach Brücke[1]) mit sehr verdünnter Phosphorsäure ausgezogen, die filtrirte Lösung mit Kalkwasser neutralisirt, der Niederschlag abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, in wenig sehr verdünnter Salzsäure gelöst, mit Alkohol im Ueberschuss gefällt, der Niederschlag in wenig sehr verdünnter Salzsäure wieder gelöst und diese Lösung durch Dialyse mit viel Wasser gereinigt. Kühne und Chittenden[2]) stellten Pepsinlösung her, indem sie zunächst 1220 gr abpräparirte Magenschleimhaut vom fundus des Schweinemagens mit 7 Liter 0,5 procentiger Salzsäure bei 40° 6 Tage lang erhielten, dann mit Ammoniumsulfat sättigten. Der erhaltene Niederschlag, bestehend aus harzigen klebenden Brocken wurde in einem Spitzbeutel gesammelt, abgepresst, rasch mit Wasser etwas gewaschen, durch Dialyse das restirende Ammoniumsulfat entfernt, dann in 5 Liter Wasser mit 0,4 pCt. HCl gehalt gelöst, wieder bei 40° einige Tage erhalten, nachdem der Mischung $^1/_4$ pCt. Thymol zugesetzt war, um Schimmelbildung zu verhüten. Dann wurde die Lösung wieder mit Ammoniumsulfat gefällt. Dieser Niederschlag enthielt nur unbedeutende Mengen von Albumosen.

Soll nur eine gut verdauende Pepsinlösung dargestellt werden, ohne dass es erfordert wird, das Pepsin selbst weiter zu reinigen, so ist es wohl am Zweckmässigsten, die abpräparirte Magenschleimhaut vom Schwein, Kalb u. s. w. mit Wasser zu waschen, in kleine Stücke zu zerschneiden und mit mehreren Portionen sehr verdünnter Salzsäure (4 bis 8 CC. rauchende Salzsäure auf 1 Liter Wasser) zu extrahiren, indem man unter öfterem Umrühren sie einige Stunden darin kalt macerirt, dann abfiltrirt und eine neue Portion der verdünnten Säure aufgiesst, nach einigen Stunden abermals abfiltrirt und zum dritten Male extrahirt. Von einem Schweinemagen erhält man ein bis mehrere Liter sehr gute Verdauungsflüssigkeit auf diese Weise. Diese Lösung ist jedoch zu Verdauungsversuchen sofort anzuwenden, sie verdirbt nach wenigen Tagen.

Haltbare Pepsinextracte erhält man durch Extraction der frischen, fein zerkleinerten Schleimhaut mit Glycerin unter öfterem Umrühren bei mindestens eine Woche lang dauernder Einwirkung. Der filtrirte Aus-

---

[1]) Sitzungsber. d. Acad. d. Wiss. Wien Bd. 43 S. 602. Maly, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 9 S. 592.

[2]) Zeitschr. f. Biolog. 1885 Bd. 22 S. 428.

zug mit Alkohol gefällt giebt ein zwar noch sehr unreines aber ziemlich wirksames Ferment.

Die käuflichen Pepsinpräparate enthalten neben Pepsin bedeutende Mengen unwirksamer und fremder Stoffe wie Milchzucker etc.

Die Stärke der Einwirkung des Pepsin auf Eiweissstoffe etc. ist, wenn auch in verschiedenem Grade, stets durch die Darstellung vermindert gegenüber dem einfachen sauren Auszuge der Magenschleimhaut nach gutem Auswaschen mit Wasser. Besonders leidet durch die complicirten Darstellungsmethoden die Fähigkeit des Pepsin in saurer Lösung nicht allein Acidalbumin und Albumosen, sondern auch in wenigen Stunden Pepton, Leucin, Tyrosin, Tryptophan durch Spaltung der Albuminstoffe zu bilden. So ist die durchaus unrichtige Meinung entstanden, dass diese weiteren Spaltungen der Eiweissstoffe nicht durch Einwirkung des Pepsins auf Eiweissstoffe, sondern aus irgend welchen andern Bestandtheilen der Magenschleimhaut gebildet würden.

Zusammensetzung und Eigenschaften des reinen Pepsins sind noch nicht sicher bekannt. In den Labdrüsen des Magens findet sich nach Langley ein Zymogen (Propepsin), welches die Lösung in 0,5 procentiger Sodalösung ohne Zersetzung verträgt, durch verdünnte Säuren in Pepsin übergeführt wird. Pepsin selbst wird durch 0,5 procentige Sodalösung zerstört[1]). Hinsichtlich der Trennung des Pepsin vom Labferment des Magens vergl. folg. Paragraphen.

Zur Gewinnung von Pepsin aus Organen oder Harn wird zweckmässig sehr verdünnte Phosphorsäure benutzt, nachherige Neutralisation mit Kalkwasser. Der abfiltrirte Niederschlag wird in sehr verdünnter Salzsäure (0,2 pCt.) gelöst und durch Verdauungsversuche bei Bluttemperatur mit Fibrinflocken die Stärke der verdauenden Einwirkung geprüft[2]).

Labferment.

196. Labferment[3]) findet sich in der gesunden Magenschleimhaut vom Menschen, Kalb, Schaf, wahrscheinlich auch bei den meisten andern Säugern, allerdings wie es scheint, oft erst aus einem Zymogen durch Einwirkung von Säure gebildet. Es fehlt beim Menschen bei starker Degeneration der Magenschleimhaut. Beim Auslaugen der Magenschleimhaut mit Wasser geht es in Lösung über. In einer Lösung in Wasser mit 0,3 pCt. HCl gehalt ist es bei gewöhnlicher Temperatur ziemlich haltbar, bei einer Temperatur von 37—40° dagegen wird es

[1]) Langley u. Edkins, Journ. of Physiology T. 7 p. 371.

[2]) Brücke, a. a. O.

[3]) Hammarsten, in Maly, Jahresber. der Thierchemie 1874 S. 118.

binnen 48 Stunden zerstört, während das zugleich in Lösung befindliche Pepsin erhalten bleibt. Wird eine Lösung der Magenschleimhaut in Wasser mit 0,3 pCt. HCl gehalt mit $MgCO_3$ gesättigt und im guten Ueberschuss mit diesem Carbonat geschüttelt, so wird Pepsin ausgefällt, während Labferment in Lösung bleibt. Aus der Lösung kann es durch basisches Bleiacetat gefällt werden. Zerlegt man diesen Niederschlag mit verdünnter Schwefelsäure, so geht es wieder in Lösung über. Aus letzterer wird es bei Zusatz von wässeriger Lösung von Stearinseife ausgefällt, und zertheilt man diesen Niederschlag in Wasser und schüttelt mit Aether aus, so löst sich die Stearinsäure im Aether und das Labferment bleibt im Wasser gelöst. Auf diese Weise isolirt in möglichst gereinigtem Zustande giebt das Labferment die Eiweissreactionen nicht.

Die einzige vom Labferment bekannte charakteristische Eigenschaft ist die der Ausfällung des Caseïn aus der Milch oder des abgetrennten Caseïn bei Anwesenheit von Calciumverbindungen aus neutraler oder schwach alkalischer Lösung. Die Umwandlung zu Paracaseïn findet durch das Ferment auch bei Abwesenheit von Calcium statt, aber das Paracaseïn wird nicht gefällt.

Trypsin.

197. Das Eiweissstoffe verdauende Ferment des Pankreas, von Kühne Trypsin genannt, wird möglichst gereinigt gewonnen nach Kühne durch folgendes Verfahren*): Lebensfrisches Pankreas wird noch warm mit Glaspulver und absolutem Alkohol zerrieben, der Niederschlag wird mehrmals in Wasser von 0° gelöst und mit Alkohol gefällt, endlich mit ganz entwässertem Alkohol lange behandelt. Der Niederschlag enthält ausser Trypsin einen eigenthümlichen Eiweissstoff, Leukoïd von Kühne genannt, welcher aus der wässerigen Lösung nicht durch mässiges Ansäuern ausgefällt wird, wohl aber durch 1 pCt. und mehr Essigsäure. Die vom Leukoïd getrennte Lösung liefert bei der Fällung mit Alkohol ein bereits viel reineres Trypsin. Wird sie bei einem Gehalte von 1 pCt. Essigsäure einige Zeit auf 40° erwärmt, so entsteht ein neuer feinflockiger Niederschlag von einem Eiweissstoff. Durch Erwärmen unter Zusatz von Soda bis zur recht deutlich alkalischen Reaction entsteht abermals ein Niederschlag grösstentheils von Erdsalzen. Durch Eindunsten bei 40° wird das Tyrosin grösstentheils zur Krystallisation gebracht, in der Lösung bleibt Pepton, viel Leucin und Trypsin. Man befreit das letztere durch Dialyse von den übrigen

*) Verhandl. d. naturhist. med. Vereins zu Heidelberg N. F. Bd. 1 Heft 3 S. 195.

Stoffen und reinigt es durch wiederholte Fällung mit Alkohol. Die Pankreasdrüse frisch vom Thier entnommen, enthält wenig oder kein vorgebildetes Enzym, sondern ein Zymogen, welches beim Liegen des Pankreas an der Luft, Einwirkung von Alkohol, auch Wirkung von schwacher Säure oder Wasser in Trypsin übergeht.

Trypsin ist nach Kühne in Wasser leicht löslich, coagulirt beim Aufkochen aus der sauren Lösung vollkommen und zerfällt dabei in coagulirtes Eiweiss und Pepton. In reinem Glycerin ist Trypsin nicht löslich, durch Alkohol wird es aus wässeriger Lösung leichter gefällt als Pepton. So lange über Trypsin filtrirtes Glycerin mit Alkohol noch Trübung giebt, ist freies Pepton vorhanden. Aus der Lösung durch Eindunsten bei 40° gewonnen, stellt das Trypsin einen schwach strohgelb gefärbten, durchsichtigen Körper dar, von eigenthümlicher Elasticität, derart, dass er zu einer leichten wolligen Masse aufbröckelt. Trypsin löst Fibrin sehr leicht und reichlich und verdaut die Eiweissstoffe, indem dabei schliesslich die Hälfte des Gewichtes vom Eiweiss als ein (Antipepton von Kühne bezeichnetes) durch weitere Trypsinwirkung nicht veränderliches Pepton, die andere Hälfte zu Leucin, Tyrosin etc. verändert erhalten wird. Leimgebende Bindegewebesubstanz wird durch Trypsin so wenig als Amylum und Dextrin verändert. Mit Säuren gequellte leimgebende Substanz sowie Glutin werden von Trypsin zu Leimpepton und nicht weiter umgewandelt[1]). Oxyhämoglobin wird von Pankreasferment leicht gespalten zu Eiweissstoff und Hämochromogen, das im Entstehungszustand mit dem vorhandenen Sauerstoff zu Hämatin oxydirt wird. Hämoglobin wird dagegen bei bleibender Abwesenheit von Sauerstoff von Trypsin nicht angegriffen, selbst bei jahrelanger Einwirkung.

Kühne und Chittenden[2]) stellten kräftiges Pankreasferment dar, indem sie 100 gr mit Alkohol und Aether gereinigtes Pankreas vom Ochsen mit 500 cbcm Salicylsäurelösung von 0,1 pCt. Gehalt 12 Stunden lang bei 40° erhielten, durch Gase pressten, den Rückstand darauf in 500 cbcm Sodalösung von 0,25 pCt. Gehalt vertheilten und unter Thymolzusatz wieder 12 Stunden digerirten. Ebenso wird mit der ersten abgepressten, sauren Flüssigkeit, nach dem Neutralisiren und Zusatz von 0,25 pCt. Sodazusatz verfahren. Nach dem Filtriren und Auspressen werden beide Flüssigkeiten vereinigt.

Zur Prüfung auf Trypsin oder ihm ähnliche Enzyme empfiehlt

---

[1]) Die Angaben bis hierher über Trypsin sind lediglich der citirten Publication Kühne's entnommen.

[2]) Zeitschr. f. Biologie 1885 Bd. 22 S. 428.

Fermi[1]) den Leim an Stelle des bisher hierfür fast ausschliesslich benutzten Fibrin: Die zu prüfenden Substanzen werden passend zerkleinert in einer 2procentigen Phenollösung 24 Stunden stehen gelassen, dann in sterilisirte verflüssigte Gelatine in einem Probirglas gebracht, gemischt, die Mischung auf eine Glasplatte ausgegossen und unter einer Glasglocke bei 10 bis 25° stehen gelassen. Ist tryptisches Enzym vorhanden, so wird entweder die Gerinnung ganz verhindert oder sie löst sich beim Stehen an demselben oder den folgenden Tagen. Das Nähere ist in der Abhandlung von Fermi nachzusehen.

Diastatisches Ferment.

198. Diastatisches Ferment findet sich hauptsächlich und constant in dem Pankreassecret und dem Pankreas selbst, beim Menschen im gemischten Speichel, Submaxillar- und Parotidenspeichel, in geringen Mengen in der Leber, der Galle, dem Blute, Chylus, Nieren, Harn, Gehirn, Magenschleimhaut, Darmschleimhaut. Ganz allgemein verbreitet finden sich diastatische Fermente auch bei den Pflanzen, höheren und niederen, auch den Infusorien. Isolirt ist keins dieser Fermente, zu ihrer Erkennung dient die Einwirkung ihrer wässerigen Lösung auf Amylum in Körnern oder besser zu Kleister gekocht, ebenso die Einwirkung auf Glycogen; beide Stoffe werden durch diese Fermente in Dextrin und Maltose, diese langsam weiter zu Traubenzucker umgewandelt, ohne dass das Ferment selbst eine Veränderung erfährt.

Die diastatischen Fermente lösen sich sehr leicht in Wasser oder in Glycerin, nicht in Alkohol, gehen bei der Diffusion oder Filtration durch thierische Membranen oder Pergamentpapier ohne grosse Schwierigkeit hindurch, werden durch starkes Ansäuern mit Mineralsäuren, ebenso Aetzalkalien, ferner beim Erhitzen der Lösung über 90° zersetzt, zum Theil schon bei viel niedrigerer Temperatur. Die Einwirkung auf Stärkekleister geht bei Speichel- oder Pankreasdiastase am Besten bei 40° vor sich, bei pflanzlicher Diastase bei viel höherer Temperatur.

Danilewsky[2]) und Cohnheim[3]) haben aus Pankreasinfus und aus Speichel durch Zusatz von verdünnter Phosphorsäure, nachheriges Neutralisiren mit Kalkwasser das Ferment theilweise gefällt, die wässerige Lösung giebt auch beim Schütteln mit concentrirter ätherischer Cholesterin- oder Collodiumlösung einen Theil des Ferments an den Niederschlag ab, doch gelingt die Fällung sehr unvollkommen.

Zur Gewinnung von diastatischem Ferment aus Flüssigkeiten oder

---

[1]) Bizzozero, Archiv. per le scienze medic. 1892 T. 16 p. 159.
[2]) Arch. f. path. Anat. Bd. 25 S. 279.
[3]) Ebendas. Bd. 28 S. 241.

Organen eignet sich ohne Zweifel besonders die Fällung und Erhärtung derselben in Alkohol, Extraction des Niederschlags mit Glycerin[1]). Aus der Glycerinlösung, die das Ferment beliebig lange conserviren lässt, wird dasselbe durch Alkohol gefällt. Ueber die Wirkung der diastatischen Fermente vergl. Paschutin, Arch. f. Anat. u. Physiol. 1871. S. 305.

Ein Ferment, welches die Fette in Säure und Glycerin zerlegt, ist von Cl. Bernard im Pankreas und dem Secrete desselben gefunden; dasselbe ist noch nicht isolirt und eine so leicht zersetzliche Substanz, dass es durch Fällung mit Alkohol oder Behandlung mit Glycerin bereits verändert wird. Um seine Einwirkung zu prüfen, kann man daher nur das frische Infus des Pankreas oder den Bauchspeichel selbst verwenden, auch in einigen Pflanzensamen findet sich fettspaltendes Ferment.[2])

Ein Ferment, welches Rohrzucker in Traubenzucker und Fruchtzucker umwandelt, ist in Pflanzen sehr verbreitet und aus der Bierhefe durch Schütteln mit Wasser und Aether und Filtration in grosser Quantität in wässeriger Lösung zu erhalten. Aus der Lösung durch Alkohol gefällt, kann es trocken ohne wesentliche Zersetzung längere Zeit aufbewahrt werden. Paschutin[3]) fand ein solches Ferment im Darminhalte und der Darmschleimhaut verschiedener Thiere und überzeugte sich, dass es durch mehrmalige Filtration durch thierische Membranen von dem diastatischen Fermente getrennt werden kann. Es wirkt kräftig zersetzend auf Wasserstoffsuperoxyd, wird beim Kochen seiner wässerigen Lösung selbst zersetzt. Dies Ferment bildet sich wahrscheinlich nicht im Thierkörper, sondern gelangt mit der Nahrung in den Darmkanal.

Einzelne noch wenig untersuchte Stoffe.

Inosinsäure $C_{10}H_{14}N_4O_{11}$.

199. Im Hühnerfleische hat Liebig eine Säure gefunden, die er Inosinsäure genannt und auf folgendem Wege dargestellt hat. Das gehackte Fleisch wird mit kaltem Wasser extrahirt und das Extract in der Weise behandelt, wie es bezüglich der Darstellung des Kreatin aus den Muskeln (siehe unten) angegeben ist. Die von den Kreatinkrystallen abgegossene Mutterlauge wird allmälig mit Alkohol gemischt, bis sie sich milchig trübt, worauf sie nach einigen Tagen gelbe körnige, blätterige oder nadelförmige Krystalle von inosinsaurem Kali und Baryt gemengt mit Krystallen von Kreatin absetzt. Man löst diese Krystalle in heissem Wasser und versetzt diese Lösung mit Chlorbarium; beim Erkalten scheidet sich inosinsaurer Baryt aus, der durch Umkrystallisiren gereinigt wird. Aus diesem Salze erhält man die Säure durch Zusatz nicht überschüssiger Schwefelsäure oder durch Zerlegung des Kupfersalzes mit Schwefelwasserstoff.

---

[1]) v. Wittich, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 3 S. 339.

[2]) Beyerinck, Centbl. f. Bacteriol. u. Parasitenk. 1889 S. 44.

[3]) a. a. O.

Die Inosinsäure ist noch nicht krystallisirt erhalten, sie bildet einen Syrup, der in Alkohol fest wird, sich leicht in Wasser löst, Lackmus stark röthet, angenehm fleischbrüheartig schmeckt und sich bereits beim Kochen der Lösung theilweise zersetzt. Ihre Salze, selbst die der Alkalien sind krystallisirbar. Die Alkalisalze sind löslich in Wasser, das in schönen perlmutterglänzenden Blättchen sich abscheidende Barytsalz ist schwer löslich in kaltem, leicht löslich in heissem Wasser. Das Kupfer- sowie das Silbersalz bilden amorphe unlösliche oder fast unlösliche Niederschläge. In Alkohol oder Aether sind die inosinsauren Salze nicht löslich.

Samandarin hat Zalesky[1]) eine Base von der wahrscheinlichen Zusammensetzung $C_{34} H_{60} N_2 O_5$ genannt, welche in dem rahmähnlichen Secret der Hautdrüsen von Salamandra maculosa enthalten ist und die Giftigkeit dieses Secretes bedingt. Das Samandarin wird dargestellt durch Fällung des heiss bereiteten wässerigen Auszugs des Secretes mit Phosphormolybdänsäure, Lösung des abfiltrirten flockigen Niederschlags in Barytwasser, Einleitung von Kohlensäure zur Ausfällung des Baryt, Filtration und Eindampfung des Filtrats in einer Retorte im Wasserstoffstrome. Es bilden sich nadelförmige Krystalle eines Hydrates, die aber zu einer amorphen Masse beim weiteren Austreiben des Wassers eintrocknen. Diese Base ist sehr zersetzlich, in Alkohol oder Wasser sehr löslich, die Lösungen reagiren alkalisch. Mit Säure bildet sie neutrale Salze, beim Fällen durch Platinchlorid tritt Zersetzung ein und beim Eintrocknen der Platindoppelverbindung entsteht eine blaue Masse, die zur Erkennung der Base benutzt werden kann. Beim Kochen mit Wasser zersetzt sich die Base nicht, wohl aber beim Eintrocknen an der Luft.

Elinsäure ist von Chevreul[2]) eine farblose, flüssige, in Wasser unlösliche, in Aether oder Alkohol lösliche Säure genannt, welche etwas schwerer als Wasser ist und aus dem Schafwollschweisse dargestellt wurde.

Einen Körper von dem Atomenverhältniss $C_7 H_{14} O$, schmelzbar bei 53°, unzersetzt destillirend bei 225°, in Alkohol löslich, unlöslich in Wasser, in starker Kalilauge und starker Säure unveränderlich, in lanzettförmigen Blättchen krystallisirend, sowie 2) einen anderen Körper von der Zusammensetzung $C_7 H_9 NO$, der bei 160—165° gelb wurde, bei 170-175° schmolz, beim Erkalten zuerst amorph erstarrte, später aber wieder krystallinisch wurde, über 200° erhitzt braunroth gefärbt und unter Geruch nach Bittermandelöl zersetzt wird, fand Shepard[3]) in den flüssigen Excrementen von Hühnern, welche bei Fütterung mit Fleisch Pillen von Amylum mit benzoësaurem Natron erhalten hatten.

Chlorrhodinsäure ist eine nach folgender Methode erhaltene Säure von Boedecker[4]) genannt. Eiter wird zur Trockne verdunstet, der gepulverte Rückstand mit Aether, mit Alkohol und dann mit Wasser ausgezogen, das Wasserextract mit Bleiessig gefällt, der Niederschlag mit Schwefelwasserstoff zerlegt und mit absolutem Alkohol ausgekocht. Nach dem Verdunsten des filtrirten Alkohol-

---

[1]) Hoppe-Seyler, Med. chem. Untersuchungen. Tübingen 1866 Heft 1 S. 85.

[2]) Compt. rend. 1866 T. 62 p. 1015.

[3]) Zeitschr. f. rat. Med. XXXI. 1868. S. 216.

[4]) Zeitschr. f. rat. Med. N. F. Bd. 6.

auszugs bleibt die Chlorrhodinsäure in der Form feiner zu Kugeln gruppirter mikroskopischer Nadeln verunreinigt mit etwas Chlornatrium zurück. Die Säure löst sich leicht in Wasser oder Alkohol, nicht in Aether; sie ist nicht sublimirbar, schmilzt beim Erhitzen und verbrennt mit Horngeruch. In ihren wässerigen Lösungen erzeugen Quecksilberchlorid, Zinnchlorür und salpetersaures Quecksilberoxyd weisse Niederschläge, ebenso Gerbsäure, der letztere Niederschlag ist in Alkohol löslich. Jod giebt in den Chlorrhodinsäurelösungen hellgelbe Färbung, Chlorwasser in verdünnter Lösung rosenrothe, in concentrirter dunkelrothe Färbung.

Excretin ist von Marcet[1]) ein krystallinischer Körper genannt, dessen Zusammensetzung er zu $C_{78}H_{156}O_2S$ fand und den er nur aus menschlichen Excrementen, nicht aus denen von Hunden u. s. w. erhalten hatte. Der Alkoholauszug der Fäces wurde mit Kalk gefällt, der Niederschlag mit Alkohol und Aether extrahirt und diese Lösung in hinreichender Kälte zur Krystallisation stehen gelassen. Das Excretin schmilzt bei 92—96°, ist nicht löslich in Wasser, fast unlöslich in kaltem, leicht löslich in heissem Alkohol oder Aether; die Lösungen reagiren neutral. Siedende Aetzkalilauge greift es so wenig als verdünnte Säuren an, nur Salpetersäure zersetzt es leicht. Ein von Hinterberger[2]) dargestelltes Präparat, dessen Eigenschaften und Darstellung beschrieben werden, ist schwefel- und stickstofffrei $C_{20}H_{36}O$; es ist wahrscheinlich unreines Cholesterin.

Excretolinsäure[3]) hat Marcet ein Gemenge von fetten Säuren u. s. w. genannt, welches man aus dem Alkoholextrakte der Excremente durch Kalk fällt.

Das Serolin Beudet's[4]) ist ein Gemenge von Cholesterin, Lecithin u. s. w. aus dem Blutserum.

Kyesteïn und Gravidin[5]) sind Bezeichnungen für Substanzen im Harne Schwangerer, welche ein schillerndes Häutchen auf demselben erzeugen sollen, aber jedes chemischen Charakters entbehren.

Eine stickstofffreie Säure erhielt Marcet[6]) aus menschlichem Harn durch Verdampfen des Harns mit Thierkohle, Dialysiren des mit Barytwasser gefällten Filtrats, Verdampfung und Fällung der dialysirten Lösung mit Bleiessig, Zerlegung des gewaschenen Niederschlags mit Schwefelwasserstoff. Die neutralen Salze sind in Wasser löslich und geben mit Bleiessig, salpetersaurem Silber, salpetersaurem Quecksilberoxyd oder -oxydulsalz sowie mit Gerbsäure reichlichen Niederschlag.

Kryptophansäure $C_5H_9NO_5$ ist von Thudichum[7]) eine Extractivsubstanz des Harns genannt, welche er auf verschiedene Weise aus dem Harne fällte, aber nur amorph gewann. Er schreibt vor, entweder den Harn abzudampfen, mit Kalkmilch zu behandeln, dann wieder mit Essigsäure anzusäuern und zur Krystallisation einzudampfen, das erhaltene Extract mit viel starkem Alkohol zu fällen, dann in Wasser gelöst mit Ueberschuss von gesättigter Bleizuckerlösung zu fällen, die abfiltrirte Flüssigkeit mit starkem Alkohol auszufällen; sowohl durch Bleizuckerzusatz als nachher durch Alkohol wird kryptophansaures Blei gefällt. Statt

---

1) Ann. de chim. et de phys. 1860 T. 59 p. 91.

2) Ann. Chem. Pharm. Bd. 166 S. 213.

3) Marcet, a. a. O.

4) Ann. de chim. et de phys. II. Ser. T. 52 p. 337.

5) Gorup-Besanez, Lehrb. d. physiol. Chem. S. 283.

6) Jahresber. d. Chemie 1864 S. 644.

7) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1870 S. 195, 209. Sitzungsber. d. bayerisch. Akad. d. Wiss. 1870, März.

der Reinigung mit Bleizucker kann auch eine Fällung mit essigsaurem Kupfer dienen. Kryptophansäure wird auch gewonnen, wenn gesättigte Bleizuckerlösung zu frischem Harn (10 CC. auf 1 Liter Harn) hinzugemischt, der Niederschlag entfernt, dann das Filtrat mit Bleizucker und Ammoniak gefällt und der Niederschlag genau mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt wird. Diese Lösung behandelt man mit kohlensaurem Baryt oder Aetzbaryt und fällt den kryptophansauren Baryt mit Alkohol.

Die Kryptophansäure ist gummiartig (vergl. § 60), löslich in Wasser, weniger in Alkohol, nicht in Aether; sie wird durch salpetersaures Quecksilberoxyd, ebenso durch Eisen- oder Chromoxydsalze gefällt und reducirt in alkalischer Lösung Kupferoxyd beim Erhitzen zu Oxydul. Die Kryptophansäure macht sonach die Liebig'sche Harnstoffbestimmung und ebenso die bekannten Titrirungen der Phosphorsäure und des Traubenzuckers unrichtig. Sie ist eine zweibasische Säure. Die bisherigen Angaben genügen durchaus noch nicht, die Kryptophansäure als eine reine Substanz zu charakterisiren.

Hlasiwetz und Habermann machen auf die Aehnlichkeit der Zusammensetzung der Kryptophansäure und der Glutaminsäure aufmerksam.

II. Abtheilung.

Die qualitative und quantitative Untersuchung thierischer Flüssigkeiten, Gewebe und Concretionen.

---

1. Aschen.

Anfertigung der Aschen.

200. Um sich zunächst zu überzeugen, ob eine Substanz überhaupt feuerbeständige Stoffe enthält, erhitzt man eine kleine Portion derselben auf Platinblech und erhält bei mässigem Glühen, bis die Kohle verschwunden ist. Man kann durch Prüfung der Löslichkeit in Wasser, der Reaction der wässerigen Lösung gegen Lackmuspapier, Aufbrausen beim Uebergiessen mit Säure sich meist bei sehr kleinen Aschenrückständen zu manchen Zwecken hinreichend orientiren, zu jeder genaueren Untersuchung ist jedoch die Anfertigung grösserer Aschequantitäten erforderlich. Zu diesem Zwecke trocknet man zunächst die Substanzen möglichst, bringt sie dann in eine kleine dünne Platin- oder Porcellanschale oder Tiegel und zwar ist es erforderlich, dass das Gefäss mindestens das sechsfache Volumen der zu veraschenden Substanz fassen kann. Ist die Substanz spröde, knistert und zerspringt sie beim Erhitzen (Albuminstücke u. dergl.), so bedeckt man zunächst das Gefäss und erhitzt bedeckt so lange, als man das Knistern hört, dann entfernt man den Deckel. Jedenfalls ist das Erhitzen nur langsam zu steigern,

um dem Wasser, gasförmigen und öligen Destillationsproducten hinreichend Zeit zum ruhigen Entweichen zu lassen; zu rapides Entweichen der Gase kann Verlust an Substanz durch Fortreissen zur Folge haben und somit erheblichen Verlust an Asche. Tritt zu heftiges Aufschäumen ein, so kann man durch Umrühren und Hinabdrücken mit einem Platinspatel oder starken Platindraht das Ueberschäumen meist verhindern, ist dies jedoch nicht zu fürchten, so ist es zweckmässiger, die verkohlende Masse nicht zu berühren. Man erhitzt in dieser Weise bis zur beginnenden Rothgluth und erhält bei dieser Temperatur, bis keine Dämpfe oder Nebel mehr entweichen, die Kohle fest und unbeweglich geworden ist, und lässt nun erkalten. Die erkaltete Kohle wird mit ein Wenig Wasser übergossen, unter demselben möglichst fein gerieben, nach Zusatz von mehr Wasser zum Sieden erhitzt, durch ein aschefreies Filter filtrirt und nach dem Ablaufen der Flüssigkeit mit heissem Wasser genügend ausgewaschen. Schale oder Tiegel, Filter und Kohle werden jetzt im Luftbade getrocknet, die trocknen Substanzen (mit dem Filter) dann in dem Tiegel oder der Schale allmälig bis zum heftigen Glühen erhitzt und diese Erhitzung im offenen Gefässe so lange erhalten, bis die Kohle völlig oder bis auf geringe Spuren verschwunden ist.

Auf diese Weise erhält man erst ein Wasserextract aus der Kohle und dann die von Wasser nicht gelösten Aschenbestandtheile für sich. Da jedoch die Kohle stets noch Spuren löslicher Salze zurückhält, wird von Wasser aus der Asche fast immer noch ein Wenig aufgenommen und es ist daher zur Trennung der löslichen von den unlöslichen Aschenbestandtheilen diese Extraction der von Kohle durch Glühen befreiten Asche nie zu vernachlässigen. Die Extraction der Kohle mit Wasser vor ihrer Entfernung durch heftiges Glühen hat einerseits den Zweck, die Verflüchtigung der Alkalisalze zu vermeiden, andererseits die Reduction von schwefelsauren Salzen oder Phosphorsäure zu hindern. Ist eine Kohle reich an Alkalisalzen, so tritt ausserdem der Uebelstand ein, dass dieselben in starker Hitze schmelzen, die Kohle als Flüssigkeit überziehen und den Zutritt des Sauerstoffs zur Kohle völlig verhindern.

Trotz der oben angegebenen Vorsichtsmassregeln treten beim Verkohlen und Veraschen leicht Verluste an Alkalisalzen, besonders Chlorverbindungen und kohlensauren Salzen ein, wenn viel beim Verkohlen sich aufblähende organische Substanzen (wie Albuminstoffe) zugegen sind. Es ist deswegen zur Anfertigung von Aschen aus Blut und anderen eiweissreichen Körpern zweckmässig, die getrockneten und pulverisirten Substanzen mit kochendem Wasser auszulaugen und diese Extracte ge-

sondert von den wieder zu trocknenden in Wasser nicht löslichen Stoffen der Veraschung in obiger Weise zu unterwerfen.

Zur Erleichterung der Veraschung sind verschiedene Mittel empfohlen: Rose[1]) empfiehlt Beimischung von Platinschwamm zur organischen Substanz, Graeger[2]) Zusatz von 10—20 pCt. des Gewichtes der zu veraschenden Substanz an Eisenoxyd (aus oxalsaurem Eisenoxydul durch Glühen bereitet). Alex. Mueller[3]) fügt zur zu veraschenden Substanz gleich vor der Verkohlung soviel salpetersaures Eisenoxyd, dass man etwa 40 pCt. Eisenoxyd in der Asche erhält. Alle diese Zusätze sind unnöthig, wenn man vor dem heftigen Glühen die Kohle mit Wasser gut auslaugt, und der Zusatz des Eisenoxyds hat noch den Nachtheil, dass man noch eine gesonderte Portion der Substanz zur Prüfung oder Bestimmung des Eisengehaltes veraschen muss.

Dagegen ist es in gewissen Fällen durchaus nöthig, der zu veraschenden Substanz kohlensaures Alkali oder Aetzbaryt zuzusetzen, um die Verflüchtigung oder Zersetzung von Säuren zu vermeiden. Zur Erhaltung der ganzen in der Substanz enthaltenen Phosphorsäure empfiehlt A. Strecker[4]), nach der Verkohlung die Kohle mit concentrirtem Barytwasser gut zu befeuchten, zu trocknen und nun zu glühen. Vermuthet man Chlorcalcium und besonders Chlormagnesium in einer zu veraschenden Substanz oder muss man (wie z. B. beim Veraschen des Gehirns geschieht) fürchten, dass wegen Mangel an genügenden Basen sich Phosphorsäure zersetzt, so mengt man sie vor dem Verkohlen mit kohlensaurem Natron und bildet somit im ersten Falle kohlensauren Kalk und kohlensaure Magnesia neben Chlornatrium, in letzterem bewahrt man die Phosphorsäure vor Zersetzung; freilich ist dann eine gesonderte Portion der Substanz ohne Sodazusatz zu veraschen und auf Natron zu prüfen und ausserdem findet leicht geringe Bildung von Cyanmetall statt, wenn die verkohlte Substanz reichlich Stickstoff enthielt und ihr Soda zugesetzt war.

Sind die zu veraschenden Quantitäten der Substanz nicht zu bedeutend, so dient zur Heizung der Bunsen'sche Gasbrenner oder die Spiritusflamme, grössere Quantitäten verascht man zweckmässiger in der Muffel, in welche man die Substanz in Platin- oder Porcellanschalen einschiebt. Die Oeffnung der Muffel nach der Feuerung ist dabei zu verschliessen, vorn dagegen der Luftzutritt zu gestatten.

---

[1]) Handbuch d. quantitat. chem. Analyse 6. Aufl. S. 761.

[2]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 111 S. 123.

[3]) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 80 S. 118.

[4]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 73 S. 366.

Quantitative Bestimmung der Asche.

201. Zur quantitativen Bestimmung der Asche, welche eine organische Substanz enthält, verfährt man ganz nach den Vorschriften des vorigen Paragraphen. Nachdem das Gewicht der gut getrockneten Substanz bestimmt ist, wird dieselbe verkohlt, die von Empyreuma freie Kohle über Schwefelsäure erkalten gelassen, gewogen, mit heissem Wasser extrahirt, durch ein kleines aschefreies, getrocknetes und gewogenes Filter filtrirt, gut ausgewaschen, Filter mit Kohle werden zwischen Uhrschalen getrocknet und gewogen, ebenso der Tiegel oder die Schale mit dem Rest der Kohle, die darin zurückgeblieben, getrocknet und gewogen, die Kohle wird dann mit dem Filter verascht, die Asche über Schwefelsäure erkalten gelassen und gewogen.

Der Gewichtsverlust, den die Kohle bei der Extraction mit Wasser erfahren hat, entspricht den im Wasser gelösten Aschenbestandtheilen; der Wasserauszug der Kohle über kleiner Flamme ohne Kochen zuletzt auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet giebt dann den Rückstand, welcher vorsichtig (Verlust durch Decrepitiren der Salze ist durch Bedeckung im Anfange des stärkeren Erhitzens zu verhüten) zum beginnenden Glühen erhitzt und nach dem Erkalten gewogen das gleiche Gewicht besitzen muss, als jener oben bestimmte Gewichtsverlust der Kohle bei der Extraction mit Wasser.

Die geglühte Asche ist mit Wasser zu extrahiren, auf kleinem aschefreien Filter zu sammeln, zu trocknen, nochmals zu glühen und nach dem Erkalten zu wägen, wenn man von der Asche erfahren will, welches die Gewichtsverhältnisse der in Wasser löslichen und der unlöslichen Aschenbestandtheile sind.

Ist Baryt nach der Verkohlung zugesetzt, so ist in der Asche durch Fällung mit Schwefelsäure sein Gewicht zu bestimmen und zur Bestimmung Chlorcalcium oder Chlormagnesium- haltiger Asche ist vor der Verkohlung eine gewogene Quantität pulverisirtes und schwach geglühtes kohlensaures Natron zuzusetzen.

Qualitative Analyse der Aschen.

1. Untersuchung der in Wasser löslichen Bestandtheile.

202. Der wässerige Auszug der Asche oder sein in Wasser wieder gelöster Rückstand ist zunächst auf die Reaction gegen Lackmus zu prüfen. In den bei Weitem meisten Fällen wird sie alkalisch gefunden und ist dann durch kohlensaure oder phosphorsaure Alkalien bedingt.

Ist kohlensaures Alkali zugegen, so giebt eine durch Abdampfen etwas concentrirte Probe Aufbrausen auf Zusatz von Salzsäure, rührte dagegen die alkalische Reaction von phosphorsaurem Alkali her, so

tritt auch beim Erhitzen mit Salzsäure keine Gasentwickelung vor dem Sieden ein, dagegen erhält man die weiter unten angegebenen Reactionen der Phosphorsäure.

Ausser diesen Verbindungen können die Wasserauszüge der Aschen schwefelsaure und salzsaure Alkalien enthalten, auch schwefelsaurer Kalk kann in seltenen Fällen in thierischen Aschen gefunden werden. Man prüft gesonderte Proben der Flüssigkeit auf folgende Weise:

1) Eine kleine Probe versetzt man mit Chlorbarium und säuert mit Salzsäure an. Ein feinpulveriger in Salzsäure und Wasser unlöslicher Niederschlag zeigt Schwefelsäure an.

2) Eine andere Probe wird mit salpetersaurem Silberoxyd versetzt; ein in Salpetersäure unlöslicher, in Ammoniak dagegen löslicher Niederschlag ist Chlorsilber, weist somit Anwesenheit von Salzsäure nach. Wenn bei der Verkohlung kohlensaures Alkali zugesetzt war oder dieses bereits reichlich in der verkohlten Substanz enthalten ist, kann die Kohle Cyanmetall enthalten. Um in diesem Fall auf Cyan zu prüfen, versetzt man eine Probe der Lösung mit Natronlauge, dann mit einem Tropfen einer Lösung von Eisenvitriol, schüttelt um, erwärmt und übersättigt nun mit Salzsäure, es entsteht eine blaue oder grüne Färbung oder blauer Niederschlag von Berlinerblau, wenn Cyan vorhanden ist. Um in diesem Falle auf Salzsäure zu prüfen, säuert man die Probe mit Salpetersäure gut an, erhitzt in der Abdampfschale zum Kochen und prüft dann erst mit salpetersaurem Silberoxyd.

3) Eine dritte Probe versetzt man mit Chlorammoniumlösung, dann mit Aetzammoniak, schüttelt um und fügt tropfenweise Lösung von schwefelsaurer Magnesia hinzu. Ein entweder sofort oder allmälig beim Stehen unter öfterem Umschütteln entstehender krystallinischer Niederschlag zeigt Phosphorsäure an. Zur Bestätigung kann man eine Probe mit Molybdänsäurelösung versetzen und erwärmen. Ist Phosphorsäure zugegen, so bildet sich allmälig ein gelber feinkörniger Niederschlag.

4) Eine andere Probe wird mit Aetzammoniak und oxalsaurem Ammoniak auf Kalk untersucht; derselbe kann höchstens in Spuren der wässerigen Lösung sein, wenn diese Phosphorsäure oder Kohlensäure enthält und nicht sauer reagirt.

5) Eine Probe durch Eindampfen concentrirt wird mit Alkohol versetzt, ein Tropfen Salzsäure und einige Tropfen Platinchlorid hinzugefügt und einige Zeit stehen gelassen. Ein gelber krystallinischer Niederschlag weist die Gegenwart von Kali nach.

6) Endlich verdunstet man den Rest der disponiblen Flüssigkeit in einem Schälchen fast zur Trockne und bringt mittelst eines in das Salz-

gemenge getauchten Platindrahtöhrs eine Probe des Salzgemenges in die Flamme eines Gasbrenners oder einer Spiritusflamme. Strahlend gelbe Färbung der Flamme zeigt die Gegenwart von Natron an.

Proben dieses rückständigen Salzgemenges können auf Spuren von Lithion noch im Spectralapparate und zur Bestätigung auf Kali untersucht werden, auch die Anwesenheit von Spuren von Kalk kann nach Befeuchten des Salzgemenges mit Salzsäure im Spectralapparate oft nachgewiesen werden. Zum genaueren Nachweis des Lithion vergl. § 5; überhaupt sind die betreffenden Paragraphen der ersten Abtheilung bezüglich der bei obigen Reactionen entstehenden Niederschläge und der zur weiteren Bestätigung anzustellenden Proben auf die einzelnen Säuren und Basen nachzusehen.

Hat man wenig Asche und auf alle Bestandtheile zu prüfen, so kann man die durch Salzsäurezusatz auf Kohlensäure untersuchte Probe zu den Reactionen auf Schwefelsäure oder Phosphorsäure sowie auf Natron benutzen. Um zu untersuchen, ob der Wasserauszug der Kohle Kieselsäure enthält, säuert man eine Portion desselben mit Salzsäure an, verdampft zur Trockne, löst den Rückstand in Salzsäure; Kieselsäure bleibt dann ungelöst zurück.

2. Untersuchung der in Wasser nicht löslichen Aschenbestandtheile.

203. Die in Wasser nicht löslichen Aschenbestandtheile erwärmt man mit verdünnter Salzsäure und wenn hierbei Eisenoxyd zurückbleiben sollte, digerirt man bis zur völligen Lösung mit concentrirter Salzsäure auf dem Wasserbade, dann filtrirt man etwaige Spuren von Kohle ab. Ein Aufbrausen beim Uebergiessen mit Salzsäure zeigt sofort Kohlensäure an, doch ist es nicht unwichtig, sich zu überzeugen, ob nicht Geruch nach Schwefelwasserstoff dabei zu bemerken ist.

Will man auf Kieselsäure (nur bei grosser Aschenquantität thunlich und auch dann nur, wenn in Platingefässen verascht war) prüfen, so verdampft man in einer Platinschale die filtrirte Flüssigkeit auf dem Sandbade zur Trockne, erhitzt bis kein Geruch nach Salzsäure bemerkt wird und löst den Rückstand wieder in Salzsäure unter Erwärmen, Kieselsäure bleibt ungelöst zurück und wird durch Filtration abgeschieden und ihre Löslichkeit in kohlensaurem Natron geprüft (vergl. § 18).

Das klare Filtrat wird mit kohlensäurefreiem Ammoniak stark alkalisch gemacht und verschlossen einige Zeit stehen gelassen, dann schnell filtrirt und Filter sowie Flüssigkeit dabei möglichst bedeckt gehalten. In dem Filtrate*) prüft man mit oxalsaurem Ammoniak auf

*) Ist das Filtrat blau gefärbt, so enthält es Kupfer, man säuert dann die Flüssigkeit mit Salzsäure schwach an, fällt das Kupfer durch einen Strom Schwefelwasserstoff, filtrirt, löst das Schwefelkupfer in wenig heisser Salpetersäure und prüft nach § 10. Die vom Schwefelkupfer abfiltrirte Flüssigkeit wird mit Ammoniak alkalisch gemacht und mit ihrer Untersuchung wie oben angegeben fortgefahren.

Kalk und nach völligem Ausfällen des oxalsauren Kalks die abfiltrirte Flüssigkeit mit phosphorsaurem Natron auf Magnesia.

Der durch Ammoniak in der salzsauren Lösung der unlöslichen Aschenbestandtheile erhaltene Niederschlag hat entweder weisse oder rothe Farbe. Wenn er roth erscheint, enthält er mehr Eisenoxyd, als die zugleich darin enthaltene Phosphorsäure zu sättigen vermag, ist er dagegen weiss, so ist kein überschüssiges Eisenoxyd darin vorhanden. Ist der Niederschlag weiss oder gelblichweiss, so verfährt man zu seiner Untersuchung nach 1., ist er roth gefärbt (z. B. aus der Blutasche), so schlägt man den in 2. angegebenen Weg ein.

1) Der durch Ammoniak erhaltene Niederschlag wird mit Essigsäure erwärmt; bleibt ein Theil des Niederschlags in Gestalt gelblichweisser Flocken ungelöst, so besteht derselbe aus phosphorsaurem Eisenoxyd. Zur Controle kann der Niederschlag abfiltrirt, in etwas verdünnter Salzsäure gelöst und die Lösung mit Ferrocyankalium geprüft werden.

Die vom phosphorsauren Eisenoxyd abfiltrirte Flüssigkeit wird mit oxalsaurem Ammoniak auf Kalk geprüft, der vorhandene Kalk durch dies Reagens völlig ausgefällt, erwärmt, filtrirt, das Filtrat mit Aetzammoniak versetzt und stehen gelassen. Ist Magnesia vorhanden, so bildet sich sogleich oder nach einiger Zeit ein krystallinischer Niederschlag.

Der bei dieser Untersuchung des Ammoniakniederschlags gefundene Kalk und die ihn begleitende Magnesia sind als phosphorsaurer Kalk und phosphorsaure Magnesia der Asche zu betrachten, da andere anorganische Verbindungen dieser alkalischen Erden durch Aetzammoniak bei Gegenwart von Chlorammonium nicht gefällt werden. Die dem Kalk zugehörige Phosphorsäure kann dann durch schwefelsaure Magnesia noch gefällt werden.

2) Ist der durch Aetzammoniak erhaltene Niederschlag röthlich und sonach reich an Eisen, so löst man ihn in wenig Salzsäure, stumpft die Säure durch Natrium- oder Ammoniumcarbonat so weit ab, dass die Lösung röthlich erscheint aber noch klar ist und sauer reagirt, fügt dann genügende aber nicht zu grosse Quantität einer Lösung von ameisensaurem oder essigsaurem Natron hinzu und erhitzt zum Sieden, entfernt dann die Flamme und lässt den Niederschlag sich absetzen. Die Flüssigkeit über dem braunen Niederschlag soll ganz farblos sein. Langes Kochen ist zu vermeiden. Der Niederschlag wird dann abfiltrirt und mit siedendem Wasser unter Zusatz von etwas Natrium- oder Ammoniumacetat schnell ausgewaschen. Wenn man befürchtet, dass noch etwas Calcium und Magnesium im Niederschlage zurückgeblieben sein könne, so ist der Niederschlag in wenig Salzsäure wieder zu lösen und derselben Behandlung nochmals zu unterwerfen. Der Niederschlag

enthält alles Eisen und die ganze Phosphorsäure, wenn Eisen im Ueberschuss vorhanden ist. Die abfiltrirte Flüssigkeit wird mit Ammoniak bis zur schwach alkalischen Reaction und sofort mit ein Paar Tropfen Schwefelammonium versetzt, ein entstehender Niederschlag darf nicht schwarz sein (es würde sonst noch Eisen in der Lösung geblieben sein), sondern gelblich bis fleischroth, wenn etwas Mangan vorhanden ist (vergl. § 9 und § 214). Die Flüssigkeit wird bedeckt an einem warmen Orte stehen gelassen, bedeckt filtrirt, der Niederschlag sogleich mit etwas schwefelammoniumhaltigem Wasser gewaschen, im Filtrate Calcium mit Ammoniumoxalat und nach Abfiltriren des Calciumoxalats das Magnesium durch Ammoniak und Natriumphosphat gefällt. Der Niederschlag, welcher Eisenoxyd und Phosphorsäure enthält, wird in Salzsäure gelöst, mit wässeriger Lösung von Weinsäure versetzt, dann die Mischung mit Ammoniak alkalisch gemacht (es darf kein Niederschlag hierbei entstehen, sonst fehlt es an Weinsäure), und nun mit Schwefelammonium gefällt, im bedeckten Becherglase auf dem Wasserbade erwärmt, bis der schwarze Niederschlag gut abgeschieden und die Flüssigkeit klar und gelblich, nicht mehr grün ist. Dann wird schnell bedeckt filtrirt, der Niederschlag mit schwefelammoniumhaltigem Wasser ausgewaschen, vergl. fernerhin § 212. Im Filtrate wird (nöthigenfalls nach Eindampfen auf kleines Volumen) die Phosphorsäure durch Aetzammoniak und Magnesiamischung ausgefällt, 12 Stunden stehen gelassen, wie es näher erläutert ist in § 209.

Rücksichtlich der Zusammensetzung und der Eigenschaften der bei diesen Reactionen erhaltenen Niederschläge sind die in der ersten Abtheilung §§ 2—18 gegebenen Darlegungen zu vergleichen.

Vermuthet man in einer Asche Kupfer, so stumpft man die Säure der salzsauren Lösung der in Wasser nicht gelösten Aschenbestandtheile mit Ammoniak ab, ohne völlig zu neutralisiren, leitet einen Strom von Schwefelwasserstoff durch die Flüssigkeit, filtrirt ausgefälltes Schwefelkupfer ab, und untersucht dann die so erhaltene Lösung nach den im Anfange dieses Paragraphen gegebenen Vorschriften weiter; in den meisten Aschen ist jedoch Kupfer durch die gewöhnlichen Reagentien nicht nachweisbar.

Quantitative Bestimmung der einzelnen Aschenbestandtheile.

Allgemeines. Bestimmung von Kalium und Natrium.

204. Die Trennung der einzelnen Körper behufs ihrer quantitativen Bestimmung kann nach denselben Methoden ausgeführt werden, welche zur qualitativen Prüfung im vorigen Paragraphen angegeben sind, nur ist es wichtig, dass hierbei alle Fällungsvorschriften genau befolgt, die Fällungen selbst vollständig ausgeführt werden. Die auf dem Filter

gesammelten Niederschläge werden nach dem Trocknen vorsichtig in den Tiegel geschüttet, in dem man sie wägen und glühen will, das Filter verbrennt man dann entweder über der Substanz im Tiegel oder man faltet es zusammen, umwickelt es mit Platindraht, verbrennt es über einem Teller, von dem man die Asche mit einer Federfahne in den Tiegel fegt.

Zur Gewichtsbestimmung des Kalium und Natrium wird eine nicht zu geringe Portion des Wasserextractes abgemessen oder gewogen, mit Chlorbarium versetzt so lange ein Niederschlag entsteht, dann Barytwasser bis zur stark alkalischen Reaction hinzugefügt, filtrirt, ausgewaschen, das Filtrat mit Aetzammoniak und kohlensaurem Ammoniak gefällt, wieder filtrirt und gewaschen, das gesammelte Filtrat zur Trockne verdunstet, zur vollständigen Entfernung der Ammoniaksalze bis zum schwachen Glühen erhitzt, der Rückstand in wenig Wasser gelöst, etwa ungelöst bleibende Flocken abfiltrirt, mit Wasser gut ausgewaschen, die Flüssigkeit abermals zur Trockne verdunstet, schwach geglüht und gewogen. Zur Lösung des gewogenen Rückstandes, welcher die Summe des Chlorkalium und Chlornatrium ausmacht, in wenig Wasser und etwas Spiritus fügt man Platinchlorid, bis kein Niederschlag mehr entsteht und die Farbe der Flüssigkeit gesättigt gelb erscheint, lässt 12 bis 24 Stunden bedeckt stehen, sammelt dann den Niederschlag auf einem kleinen gewogenen Filter, wäscht mit verdünntem Spiritus gut aus, trocknet bei 100—110°, lässt über Schwefelsäure erkalten und wägt. Aus dem Gewichte des Kaliumplatinchlorids wird nach Tabelle II im Anhange das Gewicht des Chlorkalium berechnet und durch Subtraction desselben von dem vorher gefundenen Gewichte der Summe der Chloralkalimetalle das Gewicht des Chlornatrium gefunden.

Bestimmung von Calcium und Magnesium.

205. War im Wasserextracte einer Asche Kalk gefunden, so wird in einer gewogenen oder abgemessenen Portion dieses Auszugs der Kalk durch Zusatz von Aetzammoniak und oxalsaurem Ammoniak ausgefällt, auf dem Wasserbade die trübe Flüssigkeit einige Zeit erwärmt, der Niederschlag dann auf einem kleinen Filter gesammelt, mit Wasser gut gewaschen, getrocknet, im Platintiegel heftig geglüht.

Durch starkes Glühen des bedeckten Tiegels mit Hülfe des Gebläses oder im Hempel'schen Gasofen*) ist dann das Calciumcarbonat in Aetzkalk zu verwandeln und nach dem Erkalten über Schwefelsäure zu wägen. Statt dessen kann man auch den geglühten kohlensauren

*) Zeitschr. f. anal. Chem. 1879 S. 404.

Kalk in etwas Salzsäure lösen, die Lösung zuerst auf dem Wasserbade, dann im Luftbade bei 120—150° trocknen, in etwas Wasser lösen und in derselben nach Hinzufügen von etwas chromsaurem Kali den Chlorgehalt titriren, wie es in § 208 beschrieben ist. Jeder CC. dieser Silberlösung entspricht dann 3,42 Milligr. Calcium.

Der Kalk, welcher sich in dem in Wasser nicht löslichen Theile der Asche befindet, wird mit den geschilderten Vorsichtsmassregeln gleichfalls durch oxalsaures Ammoniak gefällt und zwar der vorher an Phosphorsäure gebundene in der essigsauren Lösung; der Niederschlag wird nach dem Erwärmen der Flüssigkeit auf einem kleinen Filter gesammelt, ausgewaschen, getrocknet und geglüht, so wie es oben angegeben ist. Genauer als durch oxalsaures Ammoniak können Kalk und Magnesia durch Schwefelsäure und Alkohol getrennt werden, besonders wenn die Substanz neben viel Magnesiasalz sehr wenig Kalksalz enthält, doch ist dies Verfahren etwas umständlich (vergl. Chizinsky, Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 4 S. 348).

206. Zur Bestimmung der Magnesia ist es stets erforderlich, dass der Kalk bereits aus der Lösung völlig entfernt ist, in welcher Magnesia gefällt werden soll. Man benutzt somit zu dieser Bestimmung das Filtrat, welches beim Abfiltriren des oxalsauren Kalkes gewonnen wird und welches man zunächst, wenn es zu voluminös geworden sein sollte, durch Abdampfen concentrirt. Es ist ferner wichtig, dass die Flüssigkeiten, in denen der Kalk durch Ammoniak oder oxalsaures Ammoniak gefällt werden soll, hinreichend Chlorammoniak enthalten, so dass durch das Aetzammoniak nicht Magnesia als Hydrat ausgefällt wird.

Aus der hinreichend concentrirten, völlig kalkfreien Lösung wird die Magnesia dann durch phosphorsaures Natron gefällt, nachdem dieselbe mit Ammoniak stark übersättigt ist. Enthielt die Flüssigkeit bereits Phosphorsäure und waren die Salze derselben nur durch Essigsäure in Lösung erhalten, so genügt die Uebersättigung mit Aetzammoniak zur Ausfällung der Magnesia. Hat man die Flüssigkeit stark ammoniakalisch gemacht, so lässt man sie mit dem gebildeten Niederschlage mindestens 12 Stunden bedeckt stehen, sammelt dann den Niederschlag auf einem kleinen Filter, wäscht mit einer Mischung von etwa 1 Volumen Aetzammoniak und 3 Volumen Wasser gut aus, trocknet das Filter mit dem Niederschlage im Luftbade, schüttet den trocknen Niederschlag in ein gewogenes Porcellan- oder Platintiegelchen aus, legt das zusammengefaltete Filterchen dazu und erhitzt nun sehr allmälig, schliesslich aber zum stärksten Glühen und so lange, bis höchstens ganz unbedeutende Spuren von Kohle noch zu bemerken sind. Es ist nicht räthlich, zu früh stark zu erhitzen, und es ist auch in der

stärksten Hitze zuweilen schwierig, die Masse völlig weiss zu erhalten. Man lässt dann den Tiegel bedeckt, am Besten über Schwefelsäure, erkalten, wägt und berechnet nach Tabelle II im Anhange aus der gewogenen pyrophosphorsauren Magnesia das Magnesium.

Bestimmung von Schwefelsäure und Chlor durch Wägung.

207. Zur Bestimmung der Schwefelsäure wird eine gewogene oder gemessene Portion des Wasserauszugs der Kohle und Asche mit Salzsäure stark sauer gemacht und dann Chlorbarium hinzugefügt, so lange ein Niederschlag entsteht. Die auf dem Wasserbade $^1/_2$ bis 1 Stunde erwärmte Flüssigkeit wird nach dem Erkalten durch ein kleines Filter filtrirt, der Niederschlag auf demselben gesammelt, mit Wasser gut ausgewaschen, getrocknet, geglüht und gewogen. Tabelle II giebt den dem gefundenen schwefelsauren Baryt entsprechenden Werth der Schwefelsäure.

Zur Bestimmung des Chlors mittelst Wägung fällt man die gewogene oder abgemessene Portion des Wasserauszugs der Kohle und Asche nach Ansäuern mit Salpetersäure und Erhitzen auf dem Wasserbade durch salpetersaures Silberoxyd, so lange ein Niederschlag entsteht, erwärmt bis der Niederschlag sich gut abgesetzt hat, sammelt den Niederschlag auf einem Filterchen, wäscht aus, bis das ablaufende Waschwasser durch Salzsäure nicht mehr getrübt wird, trocknet dann Filter und Niederschlag im Luftbade, schüttet das Chlorsilber (wenn so viel vorhanden ist) auf ein Stückchen Glanzpapier aus, faltet das Filter zusammen und verbrennt es zunächst durch Glühen im gewogenen Porcellantiegelchen. Nach dem Erkalten des Tiegelchen wird der Rückstand vom Filter, der metallisches Silber enthält, mit einigen Tropfen Salpetersäure übergossen und erwärmt, das Silber löst sich und wird dann durch ein paar Tropfen Salzsäure gefällt. Man dampft auf dem Wasserbade wieder zur Trockne ab, schüttet vom Glanzpapier das noch nicht geglühte Chlorsilber in das Tiegelchen, erhitzt vorsichtig bis zum beginnenden Schmelzen des Chlorsilbers, lässt dann erkalten und wägt. Hinsichtlich der Berechnung des Chlorgehaltes aus dem Chlorsilber vergl. Tabelle II im Anhange.

Volumetrische Bestimmung des Chlorgehaltes der Aschen.

208. Zur Bestimmung des Chlorgehaltes der Aschen eignet sich sehr gut eine Lösung, welche von Liebig zur Ausfällung des Chlors aus dem Harne empfohlen ist. Zu ihrer Bereitung werden 29,063 gr reines geschmolzenes salpetersaures Silberoxyd in Wasser gelöst, diese

Lösung bis zu einem Liter mit Wasser verdünnt, gut umgeschüttelt und vor dem Lichte geschützt gut verschlossen aufbewahrt.

Um nun zunächst eine Controle der Richtigkeit für diese Titrirflüssigkeit zu haben, wägt man etwa 1 gr reines geglühtes auch chlorkaliumfreies Steinsalz ab und löst es in so viel Wasser, dass die Lösung in 100 CC. 1 gr trocknes Chlornatrium enthält. Von dieser Lösung werden 20 CC. mit einer Bürette in ein Becherglas abgemessen, ein paar Tropfen einer concentrirten Lösung von neutralem chromsauren Kali hinzugefügt und aus einer Bürette die obige Silberlösung so lange zufliessen gelassen, bis der beim Einfallen der Tropfen entstehende Niederschlag auch nach gutem Mischen mit der Flüssigkeit roth bleibt. Die erste bleibende Rothfärbung des Niederschlags giebt an, dass die Flüssigkeit jeder Spur von Chlor beraubt und dass bereits ein Minimum Silber an Chromsäure gebunden ist. Man liest dann ab, wie viel Silberlösung zur Ausfällung des Chlors erforderlich gewesen ist. War die Silberlösung richtig angefertigt, so erfordern 20 CC. der Chlornatriumlösung, welche 0,2 gr NaCl enthalten, auch 20 CC. der obigen Silberlösung zur Ausfällung des Chlors.

Zur Ausführung der Titrirung des Chlors in einer Aschelösung (die jedoch neutral sein muss und daher, wenn sie alkalisch reagirt, zunächst mit Salpetersäure angesäuert, dann durch eine Messerspitze reinen kohlensauren Kalk neutralisirt wird) füllt man eine Bürette mit der obigen Silberlösung, misst oder wägt einen bestimmten Theil der zu untersuchenden Aschelösung ab, versetzt diese Flüssigkeit mit ein paar Tropfen der Lösung von chromsaurem Kali und lässt nun unter gutem Umrühren in kleinen Portionen schliesslich tropfenweise so lange die Silberlösung aus der Bürette dazufliessen, bis nach gutem Umrühren der Niederschlag eine röthliche Färbung zu zeigen beginnt. Ist diese bleibende Aenderung der Farbe des Niederschlags eingetreten, so liesst man ab, wie viel Silberlösung verbraucht ist, und berechnet daraus den Chlorgehalt der zur Bestimmung benutzten Quantität der Aschelösung und hierdurch den Gehalt der Asche selbst an Chlor.

1 CC. der obigen Silberlösung entspricht bei dieser Titrirung 10 Milligr. NaCl oder 6,07 Milligr. Chlor. Sind also z. B. 8,7 CC. Silberlösung verbraucht, bis die Endreaction, nämlich die bleibende röthliche Färbung des Niederschlags eintritt, so enthält die untersuchte Portion der Aschelösung $8,7 . 6,07 = 52,8$ Milligr. Chlor oder 87 Milligr. Chlornatrium. Die Methode der Chlorbestimmung mittelst titrirter Silberlösung und Schwefelcyanammoniumlösung nach Volhard*) giebt

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 190 S. 1.

sehr genaue Resultate und hat den Vortheil, dass sie für salpetersaure Lösungen angewendet werden kann, ist jedoch umständlicher als die beschriebenene Methode von Mohr, wenn es sich um Aschen handelt, während sie für Harne allein angewendet zu werden verdient; vergl. unten § 224.

Bestimmung der Phosphorsäure durch Wägung.

209. Im wässerigen Auszuge der Asche und ebenso nach Abtrennung des Eisens im salzsauren Auszuge der Asche, nöthigenfalls durch Weinsäure, Ammoniak und Schwefelammonium (vergl. § 203 2.) wird die Phosphorsäure durch Magnesiamischung*) aus der kalten schwach ammoniakalischen Lösung gefällt. Enthält die Flüssigkeit nicht bereits Ammoniumchlorid, so wird vorher noch etwas davon zugefügt. Man setzt Magnesiamischung zu, solange Niederschlag entsteht, und noch etwas mehr. Dann wird zu dieser Mischung $^1/_3$ ihres Volumen Ammoniakflüssigkeit gefügt, 12 Stunden kalt bedeckt stehen gelassen, darauf schnell abfiltrirt und mit einer Mischung von Ammoniak und Wasser im Verhältniss 1 : 3 Volumen gemischt ausgewaschen, bis das Filtrat mit salpetersaurem Silber nach Ansäuern mit Salpetersäure keinen Niederschlag mehr giebt. Der Niederschlag wird auf dem Filter getrocknet, geglüht, das Filter mit dem Rest verbrannt hinzugefügt, und die weisse geglühte pyrophosphorsaure Magnesia nach Erkalten im Exsiccator gewogen.

Kleine Mengen von Phosphorsäure z. B. aus Schmelzen mit Salpeter, können bei Abwesenheit von Salzsäure, Kieselsäure und von organischen Stoffen in salpetersaurer Lösung gefällt werden durch grossen Ueberschuss von molybdänsaurem Ammoniak. Die Anwesenheit von Calcium, Magnesium, Eisen ist für diese Trennung nicht hinderlich. Auf 1 Thl. Phosphorsäure in der Lösung sollen mindestens 40 Thl. Molybdänsäure kommen. Man lässt die Mischung bei ungefähr 40° 12 Stunden stehen, filtrirt durch kleines Filter und prüft das Filtrat, ob nach Zusatz von etwas Molybdänlösung und Stehen in der Wärme

*) Magnesiamischung wird zweckmässig dargestellt durch Lösen von 83 gr krystallisirtem Magnesiumsulfat in siedendem Wasser, Zusatz von 5 cbcm Salzsäure und wässeriger Lösung von 82 gr Chlorbarium. Man kocht die Mischung, filtrirt, prüft das Filtrat mit ein paar Tropfen verdünnter Schwefelsäure, ob nicht Baryt noch in Lösung sei. Ist dies der Fall, so fällt man mit noch etwas Magnesiumsulfatlösung. Das Bariumsulfat auf dem Filter wird gewaschen, das Waschwasser und Filtrat vereinigt auf kleines Volumen eingedampft werden mit 165 gr Ammoniumchlorid, 260 cbcm Ammoniak gemischt und das Ganze zu einem Liter Mischung verdünnt, einige Tage verschlossen stehen gelassen, dann nöthigenfalls filtrirt. (Fresenius, Anleitung zur quantit. Analyse 6. Aufl. I. S. 403.)

noch weiterer Niederschlag gebildet wird. Ist dies der Fall, so ist der Niederschlag dem ersteren hinzuzufügen und mit einer Mischung von 10 Thl. Molybdänlösung, 2 Thl. Salpetersäure von 1,2 spec. Gew. und 8 Thl. Wasser auszuwaschen. Enthielt die ursprüngliche Lösung salpetrige Säure, so kann diese durch Erhitzen vorher grösstentheils ausgetrieben und der zurückbleibende Rest derselben durch ein paar Tropfen Ammoniak unschädlich gemacht werden. Der Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak wird dann auf dem Filter in wenig Ammoniak gelöst, das Filter mit verdünntem Ammoniak gewaschen, die Flüssigkeit nach Zusatz von etwas Ammoniumchlorid mit Magnesiamischung gefällt, wie oben beschrieben ist, der Niederschlag getrocknet, geglüht und als pyrophosphorsaure Magnesia gewogen.

Volumetrische Bestimmung der Phosphorsäure in Aschen.*)

210. Essigsaures Uranoxyd giebt mit phosphorsauren Verbindungen in essigsaurer Lösung einen hellgrauen, flockigen, unlöslichen Niederschlag von constanter Zusammensetzung, welcher 19,81 pCt. P_2O_5 enthält und weder durch überschüssig zugesetztes essigsaures Uranoxyd noch durch Zusatz von Ferrocyankalium in seiner Zusammensetzung geändert wird.

Ferrocyankalium giebt in sauren Uranoxydlösungen einen dunkelbraunen Niederschlag, der selbst bei ausserordentlicher Verdünnung dieser Lösungen noch deutlich wahrzunehmen ist. Auf diese beiden Verbindungen des Urans gründet sich die Titrirung der Phosphorsäure, zu deren Ausführung man ausser einer Auflösung von Ferrocyankalium (deren Gehalt man nicht zu kennen braucht) die folgenden drei Flüssigkeiten anzufertigen hat:

1. Eine Lösung von phosphorsaurem Natron von bekanntem Phosphorsäuregehalte. Das käufliche phosphorsaure Natron ist gewöhnlich oberflächlich verwittert, man krystallisirt eine Portion aus heissem Wasser um, trocknet die Krystalle gut ab, zerreibt sie, presst zwischen Fliesspapier, löst 10,085 gr davon abgewogen in Wasser und verdünnt diese Lösung, bis sie gerade 1 Liter beträgt, mit Wasser.

Die so erhaltene Lösung soll in 100 CC. 0,2 gr P_2O_5 enthalten. Man misst von derselben 50 CC. ab, verdunstet in einer kleinen Porcellanschale auf dem Wasserbade, erhitzt den Rückstand zum lebhaften Glühen, lässt erkalten und wägt. Wenn die Lösung den richtigen Titer

*) Im Wesentlichen nach Neubauer, Neubauer und Vogel, Analyse des Harns 1876. 6. Aufl. S. 169.

besitzt, so geben 50 CC. derselben nach Verdunsten und Glühen des Rückstandes 0,1874 gr phosphorsaures Natron.

2. Eine Lösung von Essigsäure und essigsaurem Natron. Man löst 100 gr krystallisirtes essigsaures Natron in etwas Wasser, fügt 100 CC. starke Essigsäure hinzu und verdünnt die Mischung im Literkolben bis zum Volumen eines Liter.

3. Titrirte Lösung von essigsaurem Uranoxyd. Man löst käufliches Uranoxyd oder kohlensaures Uranoxydnatron in einer besonders von brenzlichen Stoffen freien Essigsäure und verdünnt diese Lösung etwas mit Wasser. Nachdem man gut gemischt hat, füllt man mit dieser Lösung eine Bürette, misst mit einer anderen Bürette 50 CC. der obigen Lösung von phosphorsaurem Natron ab, lässt sie in ein Becherglas fliessen, fügt 5 CC. der Lösung von essigsaurem Natron und Essigsäure hinzu, stellt das Becherglas auf ein Wasserbad, erhitzt dies zum Kochen des Wassers und lässt nun aus der Bürette tropfenweise die essigsaure Uranlösung dazufliessen, so lange man die weitere Bildung eines Niederschlages deutlich beobachten kann. Man bringt dann nach gutem Umrühren einen Tropfen der Mischung auf eine weisse Porcellanplatte und lässt auf derselben einen Tropfen Ferrocyankaliumlösung mit einem anderen Glasstabe daneben gebracht von der Seite hinzufliessen. Entsteht beim Zusammenfliessen der Flüssigkeiten keine Farbenveränderung, so ist noch nicht alle Phosphorsäure ausgefällt, man fügt also wieder einige Tropfen Uranlösung hinzu, rührt gut um, bringt wieder einige Tropfen der Mischung auf Porcellan mit einem Tropfen Ferrocyankaliumlösung zusammen u. s. w., bis endlich bei diesem Zusammenfliessen der Tropfen beider Flüssigkeiten eine leichte Braunfärbung an der Stelle, wo sie sich mischen, erkennbar wird. Diese Braunfärbung rührt von der Bildung von Uranferrocyanid her und beweist, dass bereits alle Phosphorsäure an Uranoxyd gebunden und noch ein geringer Ueberschuss von essigsaurem Uranoxyd in Lösung ist. Man liest jetzt ab, wie viel Uranlösung verbraucht ist, wiederholt die Prüfung mit Ferrocyankaliumlösung nach kurzem weiteren Erhitzen auf dem Wasserbade noch einmal; ist die Braunfärbung jetzt wesentlich stärker geworden, so wiederholt man die Bestimmung mit einer neuen Portion von 50 CC. der Phosphorsäurelösung, indem man die Uranlösung diesmal vorsichtiger zusetzt, bis gerade nach einigem Erhitzen eine Probe der Mischung mit einem Tropfen Ferrocyankaliumlösung schwach braune Färbung giebt. Hat man auf diese Weise erfahren, wie viel Uranlösung erforderlich ist, um 0,1 gr P_2O_5 zu fällen, so verdünnt man diese Lösung, bis 20 CC. derselben 0,1 gr P_2O_5 oder 1 CC. derselben 0,005 gr P_2O_5 entsprechen.

Es sei z. B. gefunden, dass 50 CC. der Phosphorsäurelösung 5,4 CC. der Uranlösung verbrauchten, bis die braune Endreaction erschien, es mussten dann 14,6 CC. Wasser zu 5,4 CC. Uranlösung gesetzt werden, um die richtige titrirte Uranlösung herzustellen, und wenn im Ganzen 240 CC. solcher concentrirter Uranlösung zu Gebote ständen, so würde zu dieser Quantität $\frac{240 \,.\, 14,6}{5,4}$ oder 648,9 CC. Wasser zuzusetzen sein, um eine richtige titrirte Uranlösung zu erhalten, von der 1 CC. dann 0,005 gr P_2O_5 entspricht.

211. Die Bestimmung der Phosphorsäure in Aschen lässt sich nun mit der titrirten Uranlösung schnell ausführen, falls die Lösung der Asche frei von Eisenoxyd ist. Enthält aber die Asche Eisenoxyd, so neutralisirt man, falls nicht mehr Eisenoxyd da ist als die Phosphorsäure zu sättigen vermag (vergl. § 203. 1) die freie Salzsäure fast durch Ammoniak, fügt $^1/_{10}$ ihres Volumens von der obigen Lösung von Essigsäure und essigsaurem Natron hinzu, filtrirt den flockigen Niederschlag von phosphorsaurem Eisenoxyd ab, wäscht aus, trocknet den Niederschlag und bestimmt das phosphorsaure Eisenoxyd nach dem im vorigen Paragraphen angegebenen Verfahren. Das Filtrat durch Abdampfen ungefähr auf das frühere Volumen concentrirt titrirt man dann mit der Uranlösung.

Ist in der Asche mehr Eisenoxyd als die Phosphorsäure zu sättigen vermag (vergl. § 203. 2) so ist das Eisen zunächst von der Phosphorsäure zu trennen, nach Ausfällung und Abfiltriren des Schwefeleisens das Filtrat mit kohlensaurem Natron zu neutralisiren, zur Trockne einzudampfen, der Rückstand zu glühen, nach dem Erkalten wieder in Wasser zu lösen und nun nach Zusatz von $^1/_{10}$ Volumen der Essigsäure- und essigsauren Natronlösung mit Uranlösung zu titriren. Der Wasserauszug einer Asche kann stets ohne weitere Vorbereitung mit Essigsäuremischung versetzt und mit Uranlösung titrirt werden.

Diese Titrirung wird ganz in der nämlichen Weise ausgeführt, wie es oben zur Titerstellung der Uranlösung angegeben ist. Man stellt die zu titrirende Flüssigkeit nach dem Mischen mit $^1/_{10}$ Volumen Essigsäuremischung aufs Wasserbad, erhitzt dieses, lässt Uranlösung aus einer damit gefüllten Bürette zu der Flüssigkeit in kleinen Portionen einfliessen, so lange man eine weitere Vermehrung des Niederschlags dabei zu erkennen vermag; ist dies nicht mehr deutlich zu unterscheiden, so bringt man nach gutem Umrühren einen Tropfen der Mischung auf einen Porcellanteller und lässt von der Seite einen Tropfen Ferrocyankaliumlösung hinzutreten, fliessen die Tropfen zusammen, ohne dass sich Braunfärbung zeigt, so kann man wieder eine kleine Portion Uran-

lösung in die zu titrirende Flüssigkeit einfliessen lassen, umrühren und nun abermals in der angegebenen Weise mit Ferrocyankaliumlösung prüfen u. s. w., bis endlich der Tropfen auf Porcellan mit Ferrocyankalium eine braune Färbung erhält. Man liest dann ab, wie viel Uranlösung verbraucht ist und erhält durch das Product der Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter mit 5 das Gewicht von P_2O_5 in Milligrammen, welches sich in der Flüssigkeit befindet, deren Titrirung man ausgeführt hat.

Man versäume nicht, noch ein paar Minuten auf dem Wasserbade zu erhitzen und dann abermals die Mischung in der angegebenen Weise mit Ferrocyankalium zu prüfen; ist jetzt die Braunfärbung zu stark, so wiederholt man die Titrirung mit einer neuen Portion der Aschelösung unter vorsichtigerem Zusatz der Uranlösung.

So umständlich die angegebenen Vorbereitungen zur Titrirung der Phosphorsäure in Aschen mit Uranlösung zu sein scheinen, erfordern sie doch einerseits nicht viel Zeit und dann ist die Titrirung selbst sehr schnell ausführbar; sie ist auch hinreichend genau. Ganz besonders ist diese Methode zu empfehlen, wenn ganze Reihen von Phosphorsäurebestimmungen in Aschen auszuführen sind. Die Vorbereitungen werden eigentlich allein umständlich in der Blutasche wegen der Anwesenheit von viel Eisenoxyd, in bei Weitem den meisten Aschen ist die Quantität des Eisenoxyds so gering, dass man die ganze Phosphorsäure der Asche ohne vorherige Trennung des phosphorsauren Eisenoxyds mit nicht bemerkbarem Fehler durch Titrirung bestimmen kann. Man verwendet zweckmässig zur Titrirung der Phosphorsäure eine Lösung, welche $^1/_4$ bis $^1/_2$ gr Asche enthält, doch lässt sich darüber natürlich nichts völlig allgemeines vorschreiben.

Die von Liebig zuerst empfohlene Titrirung der Phosphorsäure mit Eisenchlorid steht der obigen mit Uranlösung weit an Genauigkeit nach.

Von Maly*) ist eine alkalimetrische Titrirmethode für Phosphorsäure angegeben, die in folgender Weise ausgeführt wird. Die nicht zu concentrirte Phosphatlösung wird in einen Kolben gebracht, eine abgemessene aber überschüssige Portion von auf die Hälfte oder ein Viertel der Concentration verdünnter Normalnatronlauge hinzufliessen gelassen, ein Tropfen concentrirte Corallinlösung und eine beliebige Quantität Chlorbariumlösung hinzugefügt, das Ganze erhitzt und dann mit auf $^1/_2$ oder $^1/_4$ ihrer Concentration verdünnter Normalsalzsäure titrirt bis zur Neutralisation, also bis zum Verschwinden der Rosafärbung. Die Flüssigkeit ist während der Titrirung heiss zu erhalten. Bei diesem Verfahren wird die Phosphorsäure als $(PO_4)_2\,Ba_3$ vollständig ausgefällt und der Niederschlag braucht nicht abfiltrirt zu werden. Die vom ausgefällten Barium abgetrennte Chlorquantität, welche an Natrium gebunden ist, wird durch die Titrirung in leicht ersichtlichen Weise bestimmt.

Bestimmung des Eisengehaltes der Aschen.

212. Ist der Eisengehalt der Asche, welche zu untersuchen ist, so unbedeutend, dass die vorhandene Phosphorsäure das Eisenoxyd zu

*) Zeitschr. f. anal. Chemie Bd. 15 S. 417.

sättigen vermag und daher die salzsaure Lösung der Asche mit Ammoniak einen weissen Niederschlag giebt, so ist es am Zweckmässigsten, das in Essigsäure unlösliche phosphorsaure Eisenoxyd von den übrigen Phosphaten durch diese Säure getrennt auf einem Filterchen zu sammeln, zu trocknen, zu glühen und aus dem Gewichte dieses Niederschlages das Eisen zu berechnen. Der Niederschlag unter den angegebenen Verhältnissen erhalten, besitzt stets die Zusammensetzung $PFeO_4$ und enthält hiernach 52,98 pCt. Fe_2O_3 oder 37,09 pCt. Fe. In dieser Weise bestimmt man am Einfachsten und hinreichend genau das Eisen in der Asche von Harn, Serum, Transsudaten, Secreten, vergl. § 209.

Ist dagegen der durch Ammoniak in der salzsauren Lösung der Asche erhaltene Niederschlag röthlich gefärbt, also relativ zur Phosphorsäure mehr Eisen vorhanden als der Formel $PFeO_4$ entspricht, z. B. in der Asche des Blutes oder der bluthaltigen Organe, so bestimmt man den Eisengehalt am Bequemsten durch Titrirung mit Uebermangansäure nach dem folgenden Paragraphen.

Statt dessen kann man auch, wie es der qualitative in § 203. 2. beschriebene Gang vorschreibt, das Eisen von Kalk, Magnesia, Mangan, Phosphorsäure trennen; man erhält es dann als Schwefeleisenniederschlag. Man wäscht diesen Niederschlag mit schwefelammoniumhaltigem Wasser aus und hält während des Auswaschens den Trichter mit einer Glasplatte bedeckt, löst darauf den Niederschlag in verdünnter Salzsäure, kocht die Lösung mit starker Salpetersäure, bis sie gelb und klar geworden ist, filtrirt durch ein aschefreies Filter ausgeschiedenen Schwefel ab, und fällt im Filtrate durch überschüssiges Ammoniak das Eisenoxydhydrat. Digerirt man die Flüssigkeit einige Zeit auf dem Wasserbade, so scheidet sich das Oxydhydrat gut flockig aus, man sammelt es auf kleinem aschefreien Filter, wäscht gut mit Wasser aus, trocknet das Filter mit dem Niederschlage, glüht heftig bei Luftzutritt und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Im gewogenen Eisenoxyd ist 0,7 des Gewichtes Eisen enthalten.

Volumetrische Bestimmung des Eisens mit Uebermangansäure.

213. Eisenoxydulsalze werden durch Uebermangansäure in Eisenoxydsalze umgewandelt, während die Uebermangansäure selbst in der sauren Lösung in Manganoxydulsalz übergeht. Hat man nun in einer Flüssigkeit keine anderen leicht oxydirbaren Substanzen, so kann man alles Eisen in Oxydulsalz durch Reduction überführen, dann mit einer Uebermangansäurelösung von bekanntem Gehalte das Oxydul in Oxyd

überführen und aus der Quantität der verbrauchten Uebermangansäurelösung berechnen, wie viel Eisen die Asche enthält.

Für diese Titrirung sind nur Büretten mit Glashahn ohne Kautschuk und ohne Fett verwendbar.

Die Lösung von Permanganat stellt man dar durch Auflösen von ungefähr 0,3 gr reinen krystallisirten übermangansauren Kalis in Wasser und Verdünnung der Lösung mit reinem destillirten Wasser auf 1 Liter. Die Lösung hält sich in reiner, mit Glasstopfen verschlossener Flasche unzersetzt, wenn sie von vorn herein rein war.

Man fertigt ferner eine Lösung von Eisensulfat an durch Auflösen von ungefähr 0,5 gr reinen blanken Eisendraht (Blumendraht, ungefähr 4 p. M. Kohlenstoff enthaltend), genau gewogen, in verdünnter eisenfreier Schwefelsäure (die mit Wasser verdünnte Säure darf in eine mässig concentrirte Lösung von Schwefelcyankaliumlösung getropft, keine Rothfärbung bewirken) in einem mit eingeriebenen Glaspfropfen verschliessbaren Kolben von wenigstens 300 CC. Rauminhalt auf dem Wasserbade. Man verdünnt die Lösung sogleich nach dem Erkalten auf bestimmtes Volumen (z. B. 300 CC.) bis zu einer Marke im Halse des Kolben mit frisch ausgekochtem Wasser.

Zur Reduction des Eisenoxydsalzes in den Aschen zu Eisenoxydulsalz verwendet man am Besten eine Lösung von schwefeliger Säure, eingeleitet in Wasser bis zur Sättigung, die gleichfalls in einer Flasche mit Glasstopfen aufzubewahren ist.

Man lässt dann aus einer Glashahnbürette 20 CC. der Eisensulfatlösung in einen Kolben fliessen, der ungefähr 100—150 CC. ausgekochten destillirten Wassers enthält, erhitzt zum beginnenden Sieden und lässt aus einer andern Glashahnbürette so lange von der Permanganatlösung hinzufliessen, bis die Rosafärbung nicht alsbald mehr verschwindet und liest die verbrauchten Cubikcentimeter Permanganatlösung ab. Dieselben entsprechen der Quantität Eisen in 20 CC. der Eisensulfatlösung von bekanntem Gehalte zu ihrer Ueberführung des Oxyduls in Oxyd.

Ist dies Verhältniss festgestellt, so wird die Bestimmung des Eisengehaltes in der Asche ausgeführt. Für solche Bestimmung genügen von Blut 50 CC., von Harn, Galle, Milch und anderen Flüssigkeiten oder Organen ist dagegen die 4—10fache Quantität zu verwenden. Die getrockneten Massen werden nach den in §§ 200 u. 201 gegebenen Vorschriften verascht; der salzsaure Auszug enthält das ganze Eisen. Derselbe wird in einer Platinschale mit überschüssiger reiner Schwefelsäure versetzt, über kleiner Flamme ohne Sieden verdampft und bis zum Beginn der Nebelbildung durch verdampfende Schwefelsäure er-

hitzt. Der Rückstand in Wasser gelöst wird in einen Kolben gespült, mehrmals mit Wasser nachgewaschen, ungefähr 20 CC. Lösung schwefeliger Säure zugesetzt, zum Sieden erhitzt und so lange im schwachen Sieden erhalten, bis weder Lackmuspapier noch Geruch eine Spur von schwefeliger Säure nachzuweisen vermögen.

Dann wird Permanganatlösung aus der Glashahnbürette so lange in einzelnen Portionen hinzugefügt, bis die Rosafärbung der Flüssigkeit beim Stehen in 10—20 Minuten nicht wieder verschwindet. Die Berechnung des Eisengehaltes in der untersuchten Substanz ist so einfach, dass sie nicht geschildert zu werden braucht.

Eingehende Beschreibungen dieser Bestimmungsmethode mit zahlreichen Cautelen vergl. in Huppert, Neubauer und Vogel, Anleitung zur qualit. und quantit. Analyse des Harns. 9. Aufl. 1890. S. 464.

Bestimmung des Mangans und der Kieselsäure.

214. Der Gehalt thierischer Aschen an Mangan ist meist zu unbedeutend, als dass er ohne Verwendung sehr grosser Aschenmengen irgend genau bestimmt werden könnte. Hat man das Mangan entsprechend dem § 203. 2 angegebenen Verfahren als Schwefelmangan gefällt, den Niederschlag auf kleinem Filter gesammelt oder besser durch Decantiren von der Flüssigkeit getrennt, mit schwefelammoniumhaltigem Wasser gewaschen, so bringt man ihn am Besten in ein Tiegelchen, trocknet und glüht bis zur völligen Veraschung des Filters. Nach dem Erkalten bestreut man die geglühte Masse mit etwas reinem Schwefelpulver, bedeckt den Tiegel mit einem in seiner Mitte durchbohrten Deckel, führt durch dies Loch die rechtwinklig umgebogene Spitze einer Glasröhre ein, die in den Tiegel hinabragend doch noch in genügendem Abstande von der Substanz am Boden des Tiegels sich befindet, leitet durch diese Röhre getrocknetes Wasserstoffgas, welches man aus Zink und verdünnter Schwefelsäure bereitet und in einem Rohre mit Chlorcalcium oder besser Natronkalk gefüllt trocknet, erhitzt, wenn die Entwickelung einige Zeit im Gange ist, den Tiegel zum lebhaftesten Glühen, so dass aller überschüssiger Schwefel entfernt wird, lässt im Wasserstoffstrome erkalten und wägt. Das Mangan wird bei diesem Verfahren in Mangansulfür verwandelt*).

Um die Kieselsäure in organischen Stoffen zu bestimmen, ist das Veraschen derselben in Platingefässen vorzunehmen und möglichst vollständig die Kohle durch Glühen zu entfernen. Man übergiesst dann die Asche mit Salzsäure und digerirt bis zur Lösung, verdampft zur Trockne

*) H. Rose in Pogg. Ann. Bd. 110 S. 122.

und erhitzt auf dem Sandbade über 100°, bis keine sauren Dämpfe mehr entweichen, digerirt den Rückstand mit Salzsäure auf dem Wasserbade einige Zeit, verdünnt dann mit Wasser und bringt die allein ungelöst bleibende Kieselsäure auf ein kleines Filter, wäscht gut aus, trocknet, glüht und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Man prüft endlich die gewogene Kieselsäure auf ihre Reinheit durch Kochen mit mässig concentrirter Lösung von kohlensaurem Natron (ist sie rein, so löst sie sich hierbei klar auf) oder besser durch Abdampfen in concentrirter Lösung mit etwas Fluorammonium und Erhitzen zum Glühen, wobei sich die Kieselsäure verflüchtigt und die vorhandenen anderen Stoffe gewogen werden können.

Bestimmung der Kohlensäure.

215. In den Aschen der Organe oder Flüssigkeiten höherer Thiere findet sich nur wenig kohlensaures Salz und es kann beim Veraschen durch Phosphorsäure Kohlensäure aus der Verbindung ausgetrieben, kohlensaurer Kalk auch durch das Glühen in Calciumoxyd umgewandelt werden. Aschen, in denen kohlensaure Verbindungen bestimmt werden sollen, sind deshalb mit besonderer Vorsicht darzustellen.

Zur Bestimmung der Kohlensäure kann in allen Fällen der in Fig. 2 abgebildete Apparat dienen. Die Substanz, von welcher der CO_2gehalt bestimmt werden soll, wird in den Kolben *A* gebracht und etwas ausgekochtes destillirtes Wasser hinzugefügt, so dass nach Aufsetzen des Korkes die Einleitungsröhre mit der Oeffnung *a* unter dem Niveau desselben steht. Die Hähne von Glas *c* und *d* sind vorläufig beide geschlossen. Das zunächst an den Kolben angefügte Chlorcalciumrohr *F* ist grösstentheils mit Stücken von getrocknetem Chlorcalcium, von *f* bis *m* jedoch mit Bimsteinstücken, die mit Kupfervitriollösung getränkt und dann scharf erhitzt sind zur Entwässerung des Kupfervitriols, gefüllt. An dies Chlorcalciumrohr ist der Liebig'sche Kalikugelapparat *G* und hieran das U-röhrchen *H*, gefüllt mit Aetzkalistückchen, angefügt. Die Apparate *G* und *H*, der erstere mit Kalilauge von 1,27 spec. Gew. in passender Weise gefüllt, sind vor dem Versuche genau zu wägen. Die Flaschen *K* und *M* enthalten Chlorcalciumstücke und die U-röhren *J* und *L* enthalten Natronkalk in kleinen Körnern. Diese Apparate *ML* und *KJ* verhindern, dass Kohlensäure von aussen in den Apparat gelangen kann, wenn Luft in der einen oder anderen Richtung hineindringt; die Apparate *KJ* verhindern zugleich den Zutritt von Feuchtigkeit aus der Luft zu den Kalistücken im Rohr *H*.

Ist nun die Substanz in *A* mit Wasser eingebracht und sind durch Kautschukröhrchen die Apparate mit einander verbunden, die Enden der

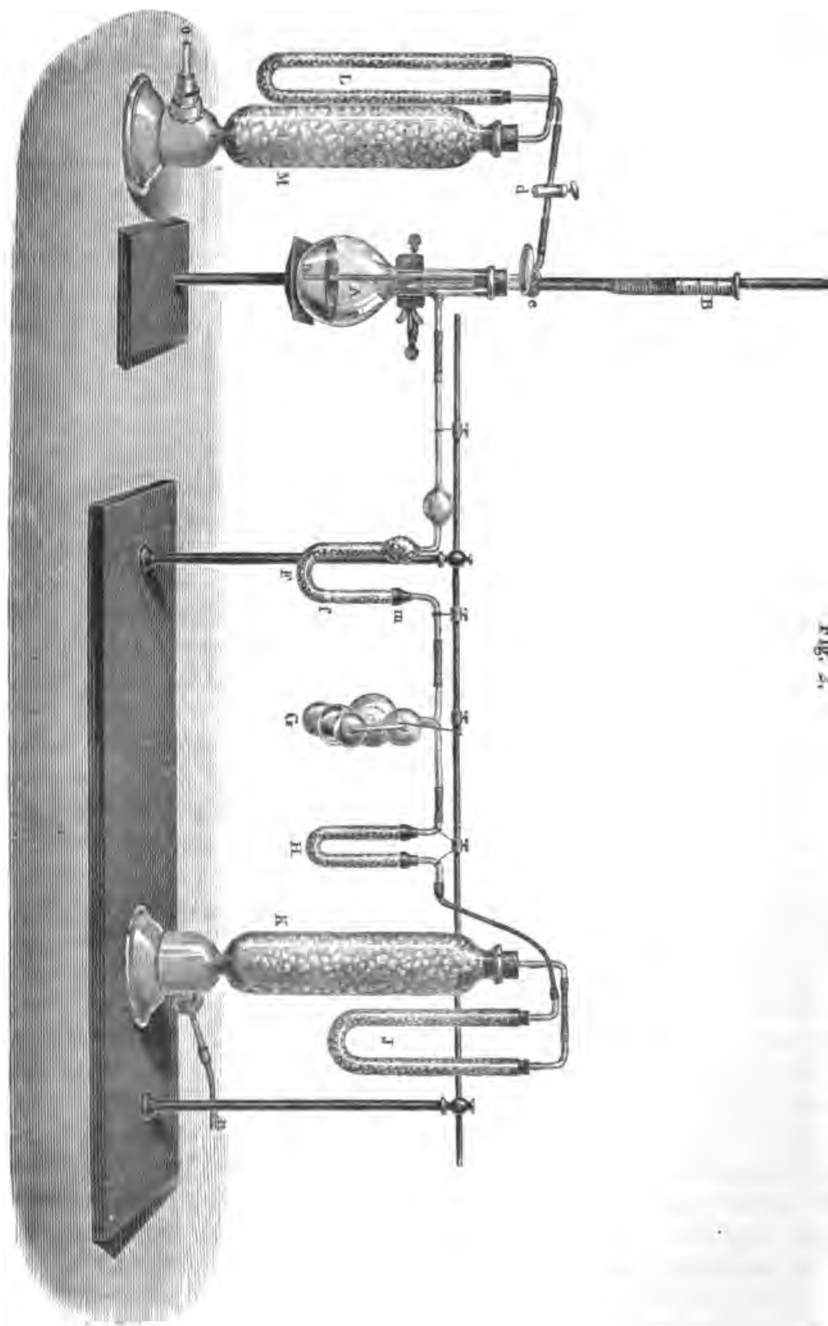


Fig. 2.

Röhren *n* und *o* aber offen, so giesst man eine genügende Quantität reine starke Salzsäure in die Glashahnbürette *B*, deren Hahn geschlossen ist und deren verlängertes unteres Ende durch den Kautschukstopfen gesteckt in den Hals des Kolben *A* hinreichend tief hineinragt. Man lässt dann tropfenweise durch vorsichtiges Oeffnen des Hahns *c* Salzsäure in den Kolben *A* fallen, bewegt den Kolben etwas, wartet einige Zeit, wenn sich noch Gasblasen aus der Flüssigkeit entwickeln, lässt dann von Neuem einige Tropfen Salzsäure in den Kolben fliessen, bis keine weitere Gasentwickelung mehr zu bemerken ist. Jetzt erhitzt man den Kolben *A* sehr langsam, allmälig aber bis zum Sieden der Flüssigkeit, öffnet dann schnell den Hahn *d*, indem man die Flamme entfernt, verbindet den Kautschukschlauch *n* mit einem Aspirator und saugt langsam Luft durch die ganze Reihe der Apparate hindurch, bis das aus dem Aspirator abgelaufene Wasser ungefähr das 10—15fache Volumen des Kolben *A* ausmacht. Dann werden die Kaliapparate *G* und *H* abgenommen und gewogen; ihre Gewichtszunahme ist das Gewicht der in der Substanz enthaltenen Kohlensäure.

Es ist besonders darauf zu achten, dass das Erhitzen der Flüssigkeit im Kolben *A* so langsam geschieht, dass der entweichende Luftstrom langsam durch die Kalilauge geht, dass man nur soweit das Sieden unterhält, bis sich etwas Wasser in der Kugel des Chlorcalciumrohrs *F* niederschlägt und dass man dann schnell den Hahn *d* öffnet, indem man die Flamme entfernt.

Der Apparat kann zu allen verschiedenen erforderlichen Kohlensäurebestimmungen dienen, die Resultate sind genau und die Operation einfach und leicht ausführbar. Die Füllung der Apparate kann meist für mehrere Bestimmungen hinter einander dienen.

---

2. Untersuchung des Harns.

Bestandtheile des Harns im normalen und pathologischen Zustande.

216. Mit Ausnahme der Vögel und der beschuppten Amphibien ist der Harn der sämmtlichen Wirbelthiere und ebenso der des Menschen im Wesentlichen eine Lösung von Harnstoff und anorganischen Stoffen, unter denen das Chlornatrium am Meisten vorherrscht. Bei einer nicht unbedeutenden Anzahl von Pflanzenfressern, besonders Säugethieren, enthält der Harn neben Harnstoff noch reichliche Quantitäten von Hippursäure, die bei Menschen und Fleischfressern entweder ganz fehlt oder nur in Spuren angetroffen wird; bei Vögeln und beschuppten Amphibien stellt der Harn einen Brei von Harnsäure und harnsauren Salzen

dar und der Harnstoff findet sich darin meist nur in Spuren. Neben den reichlich enthaltenen genannten Stoffen finden sich im Harne des Menschen und der Säugethiere, so weit bis jetzt derselbe hinreichend untersucht ist, noch geringe Quantitäten von Glucose, eines anderen Kohlehydrats, Glycerinphosphorsäure, Kreatinin, Nucleïnbasen, Inosit, Aetherschwefelsäuren aromatischer Substanzen wie Phenol, Kresol, Brenzcatechin, Indoxyl, Skatoxyl, ferner Hydroparacumarsäure, Paroxyphenylessigsäure, eines oder mehrerer den Harn gelb färbender Stoffe, die noch nicht näher bekannt sind. und etwas Schleim; von anorganischen Stoffen enthält der Harn ausser Chlornatrium noch die Phosphate von Natron, Kalk, Magnesia und schwefelsaures Alkali als constante Bestandtheile, seltener und nur bei Pflanzennahrung auch kohlensauren Kalk. Ammoniaksalze fehlen, wie es scheint, im Harne nie ganz, doch ist im normalen Zustande ihre Quantität nur sehr gering. Während des Fötalzustandes scheiden Menschen und Rinder, ebenso wie einige Tage nach der Geburt, Allantoïn im Harne aus. Dasselbe ist auch im Harne erwachsener Thiere nicht selten gefunden. Ausser diesen normalen Bestandtheilen kann der Harn in Krankheiten noch folgende Stoffe enthalten: Albuminstoffe, Methämoglobin, Gallenfarbstoffe, Gallensäuren, Milchsäure, Acetessigsäure, Oxybuttersäure, Penta- und Tetramethylendiamin, Leucin, Tyrosin, Cystin, Inosit (auch oft im normalen Urin), Fette, Lecithin. Spuren von Fermenten, z. B. Pepsin, sind gleichfalls im Harne gefunden.

Der normale und auch die meisten pathologischen Harne erhalten sich in reinen Gefässen bei kühler Temperatur mehrere Tage ziemlich unverändert, wenn nicht Spaltpilze oder Hefezellen hineingelangen.

Allgemeine Eigenschaften des Harns.

Geruch, Klarheit, Fluorescenz, Consistenz, spec. Gewicht.

217. Der Geruch des Harns von Menschen und Thieren ist noch nicht auf bestimmte chemische Stoffe zurückgeführt. Nachdem die Zersetzung des Harns durch Fäulniss begonnen hat, erhält der Harn stets einen deutlich ammoniakalischen Geruch, weil bei der Zersetzung des Harnstoffs Aetzammoniak entweicht.

Der frisch gelassene normale Harn von Menschen und fleischfressenden Säugethieren erscheint klar und durchsichtig, setzt aber doch nach kürzerem oder längerem Stehen ein Wölkchen von Schleim ab, in dem sich (beim Menschenharn meist) bald einzelne mikroskopische Octaëder von oxalsaurem Kalke einfinden. Ist der Harn getrübt, so lässt man ihn einige Stunden, am Besten in einem Spitzgläschen, an einem kühlen Orte stehen, giesst dann vom Sedimente ab

und prüft Sediment und die nöthigenfalls noch filtrirte Flüssigkeit getrennt. Hinsichtlich der Sedimente vergl. § 257 und die folgenden Paragraphen.

Der Harn von Pflanzenfressern ist meist mehr oder weniger trübe durch Niederschläge von oxalsaurem oder kohlensaurem Kalk und Schleim.

Ausser der geringen Trübung, welche die suspendirten schleimigen Massen auch im normalen Harne erzeugen, zeigt der Harn von Menschen und Säugethieren meist auch eine bemerkbare wahre weissliche Fluorescenz; man weiss jedoch nicht, durch welche Stoffe dieselbe bewirkt wird.

Die Consistenz des Harns von Menschen und den meisten Säugethieren ist die einer gut tropfbaren Flüssigkeit; er besitzt weder Zähigkeit noch Klebrigkeit, pathologisch wird der Harn zuweilen gallertig durch reichliche Schleimbeimengung mit oder ohne Albumingehalt bei Blasenkatarrhen. Eine eigenthümlich zähe, schleimige Beschaffenheit zeigt häufig bei völliger Klarheit der Pferdeharn, so dass er beim Ausfliessen aus einem Gefässe sich in langen Fäden hinabzieht. Beim Kochen wird dieser Harn getrübt unter Ausscheidung von kohlensaurem Kalk und büsst dabei viel von seiner Zähigkeit ein. Solcher Pferdeharn enthält viel Schleim, ebenso wie der menschliche Harn bei Blasenkatarrh.

Mit Luft geschüttelt bildet der normale menschliche Harn Schaum, der in Ruhe bald wieder verschwindet, ist der Harn dagegen eiweisshaltig oder enthält er viel Schleim, so bildet sich beim Schütteln ein feinblasiger langbleibender Schaum.

Das spec. Gewicht des Harns, welches stets am Einfachsten mittelst des Aräometers geprüft wird, schwankt bei menschlichen Harnen zwischen 1,000 und 1,050; Hundeharn kann bis über 1,060 spec. Gewicht haben; das durchschnittliche spec. Gewicht des menschlichen Harns mag etwa 1,014 betragen. Zeigt ein Harn sehr hohes spec. Gewicht, so ist Diabetes zu vermuthen, ist dagegen diese Krankheit nicht vorhanden, so zeigt das spec. Gewicht im Ganzen Steigen und Fallen mit dem Harnstoffgehalt des Harns und mit dem Gehalte an Chlornatrium.

Farbe des Harns.

218. Ein mehr oder weniger gesättigtes Gelb ist die Farbe des normalen Harns von Menschen und fast allen Thieren, soweit dieselben überhaupt flüssigen Harn liefern; Pferde- und Rinderharn ist fast immer dunkler bräunlich gefärbt.

Eine sehr blasse Färbung zeigt der menschliche Harn bei grosser Verdünnung z. B. bei Diabetes, Chlorose und Hydrämie, chronischen Rückenmarkskrankheiten.

Eine dunkle bräunliche bis schwarze Farbe des Harns kann nicht wohl bedingt sein durch reichlichen Gehalt an normalen Harnfarbstoffen, aber auch ein ganz normal gefärbter Harn kann beim Stehen dunkler, obwohl höchstens hellbraun gefärbt werden. Nach Einführung von Phenol, Kresol, Brenzcatechin wird der Harn dunkelbraun, ebenso durch Gerbsäuren, Indol. Bei Alcaptonurie färbt sich der Harn beim Stehen dunkel.

Auch durch Gallenfarbstoffe, durch Methämoglobin (Vergiftung mit Arsenwasserstoff, Hämaturie der Rinder), auch durch Hämatoporphyrin kann sehr dunkle Färbung des Harns bedingt sein. Beim Eindampfen in der Hitze wird die Farbe des Harns meist dunkler.

Rothe Farbe bekommt der Harn oft in Digestionsstörungen und fieberhaften Krankheiten durch reichlichen Gehalt an Urobilin. Diese Rothfärbung der Flüssigkeit ist zu unterscheiden von einer durch mikroskopische Untersuchung der Sedimente leicht zu entdeckenden Rothfärbung des Harns durch Blutkörperchen.

Auch durch Chrysophansäure (Rhabarber, Sennesblätter) wird der Harn mehrere Tage nachher roth gefärbt, wenn er alkalisch ist; auf Zusatz überschüssiger Säure wird er aber in diesem Falle sofort goldgelb und diese Veränderung der Farbe tritt nicht ein, wenn die Röthe durch die § 154 beschriebenen Farbstoffe bewirkt ist.

Eine gelbgrüne oder grüne Färbung zeigt der Harn oft bei Gelbsucht wegen Gehalt an Gallenfarbstoffen.

Eine blaue Färbung auch blaues Häutchen mit rothem metallischen Glanz oder Sediment von dieser Farbe wird im Harne wohl nur durch Bildung von Indigo aus Indoxylschwefelsäure und Indoxylglucuronsäure erzeugt; der frische Harn zeigt nie diese Färbung.

Zur relativen Feststellung des Gehaltes der Harne an Harnfarbstoff hat Vogel*) ein Verfahren angegeben, das jedoch so lange noch ziemlich nutzlos erscheinen muss, bis man etwas über die normalen färbenden Bestandtheile des Harns weiss.

Zur Vergleichung zweier Harne hinsichtlich der Farbe kann man sich am Besten viereckiger Glasflaschen von gleichem Durchmesser bedienen. Durch Verdünnung eines gemessenen Volumen von dunklerem Harne mit gemessenen Wassermengen aus einer Bürette, bis der so ver-

*) Huppert, Neubauer u. Vogel, Anl. z. Anal. d. Harns. 9. Aufl. 2. Abtheilung (Thomas) S. 55.

dünnte Harn in gleicher Dicke der Schicht im durchfallenden Lichte betrachtet dem anderen Harne an Farbenintensität gleich geworden ist, kann man bei gleicher Durchsichtigkeit beider Harne einen Ausdruck für die Sättigung ihrer Farbe erhalten.

Reaction des Harns.

219. Die Reaction des Harns ist im Ganzen abhängig von der Nahrung, sie ist sauer bei Menschen und Thieren während des Hungerzustandes und bei Fleischkost, neutral oder alkalisch bei vegetabilischer Nahrung. Der frisch gelassene Harn von Menschen und Fleischfressern verdankt die saure Reaction, so lange er frisch ist, seinem Gehalte an saurem phosphorsauren Alkali; beim Stehen verringert sich meist allmälig der Säuregrad, während zugleich, wie oben erwähnt ist, die Färbung dunkler wird, sich Epithelreste und oft auch Harnsäure absetzen.

Wenn man sich überzeugen will, ob die saure Reaction eines Harns ausser dem sauren Phosphat noch von freien nicht flüchtigen organischen Säuren bewirkt wird, fällt man den Harn mit einem grossen Ueberschuss von Alkohol, filtrirt, verdampft bei mässiger Erhitzung in flacher Schale auf dem Wasserbade zum sehr kleinen Volumen, fällt nochmals mit absolutem Alkohol und prüft das wieder verdunstete Filtrat mit Lackmus. Die Untersuchung auf flüchtige fette Säuren im Harne wird nach dem § 34 angegebenen Verfahren ausgeführt. Rührt die saure Reaction des Harns nur von sauren Phosphaten her, so nimmt das Alkoholextract keine saure Reaction an, während der durch den Alkohol gefällte Niederschlag mit Wasser befeuchtet intensiv sauer reagirt.

Alkalische Reaction des Harns kann bewirkt sein durch phosphorsaures Natron ($PHNa_2O_4$) oder kohlensaures Natron oder Ammoniak. Ist letzteres die Ursache, so bläut sich ein über dem Harne aufgehängter, vorher angefeuchteter rother Lackmuspapierstreifen binnen kurzer Zeit, ist dagegen kohlensaures Natron die Ursache, so giebt der durch Abdampfen stark concentrirte (und wenn ein Niederschlag sich gebildet hat, filtrirte) Harn mit Salzsäure Aufschäumen durch Entweichen von Kohlensäure. Lässt man kleine Mengen eines durch Ammoniak alkalisch reagirenden Harns in flacher Schale oder auf Papier an der Luft verdunsten, so tritt im Rückstand oft intensiv saure Reaction ein. Beim Sieden verliert der Harn stets Ammoniak und die Reaction wird sauer.

Zur Bestimmung des Säuregrades vom Harne kann man sich einer titrirten sehr verdünnten Natronlauge bedienen, die man zu einem

gemessenen Volumen Harn so lange aus einer Bürette zufliessen lässt, bis Lackmuspapier durch das Gemisch gerade violett gefärbt erscheint.

Eine solche verdünnte Natronlauge erhält man entweder sehr einfach dadurch, dass man die Mohr'sche Normalnatronlauge, von welcher 1 CC. 0,031 gr Na_2O entspricht (vergl. § 222 Anmerkung) auf $^1/_{10}$ ihrer Concentration verdünnt, oder man löst 10 gr reine trockene Krystalle von Oxalsäure in Wasser, verdünnt zu einem Liter Lösung und fertigt sich nun eine verdünnte Natronlauge an, von welcher 10 CC. gerade 10 CC. dieser Oxalsäurelösung neutralisiren, so dass einige Tropfen zugefügter Lackmustinctur oder besser Blauholztinctur gerade violett gefärbt werden.

Um nun die Bestimmung des Säuregrades eines Harns auszuführen, misst man von demselben 100 CC. in ein Becherglas ab und lässt aus einer Bürette die Natronlauge zufliessen, bis Lackmuspapier durch die Mischung weder blau noch roth, sondern violett gefärbt wird. Die Prüfung mit Lackmuspapier ist dem Zusatz der Tinctur vorzuziehen, weil die gelbe Farbe des Harns die Genauigkeit der Unterscheidung des bei der Neutralität eintretenden Farbenwechsels erheblich beeinträchtigt und überhaupt die Beobachtung der Aenderung der Farbe auf weissem Papier sicherer ist.

Bestimmung der festen Stoffe des Harns.

220. Wenn man Harn auf dem Wasserbade verdunstet, so erhält man einen syrupartigen Rückstand, der nie völlig trocknet und fortdauernd Spuren von Ammoniak entwickelt. Die Ursache der Ammoniakentwickelung ist die Einwirkung des sauren Natronphosphats auf den Harnstoff in sehr concentrirter Lösung; der Harnstoff wird nämlich beim starken Eindampfen der wässerigen Lösung durch dies Salz zerlegt zu Kohlensäure und Ammoniak, Ammoniak verbindet sich mit dem Phosphat zu $PNa(NH_4)_2O_4$, aber diese Verbindung zerlegt sich fortwährend wieder bei 100° unter Entwickelung von Ammoniak.

Um nun trotz dieser unvermeidlichen Zersetzung eine Vorstellung vom trocknen Rückstande des Harns zu erhalten, hat Neubauer folgende Methode angewendet: Durch ein cylindrisches aus Blech gefertigtes Wasserbad geht in der Mitte senkrecht zur Axe des Cylinders ein Blechrohr von $2^1/_2$ bis 3 cm Durchmesser, in welches ein Glasrohr eingeschoben werden kann, in dem sich wieder ein Porzellanschiffchen befindet. Das Porzellanschiffchen ist zu $^2/_3$ mit nicht zu kleinen Glassplittern gefüllt, und ist etwa 7 bis 8 cm lang und 1,4 cm breit. Die Glasröhre, in dem sich das Schiffchen befindet, ist an einem Ende zu einer feineren längeren Röhre ausgezogen, die rechtwinklig gekrümmt und nach abwärts durch den doppelt durchbohrten Kork in einen Kolben, der ein abgemessenes Volumen titrirter Schwefelsäure enthält, eintritt und unter dem Niveau der Säure mündet; in die andere Bohrung des Korkes ist ein Glasröhrchen, welches den Luftraum im Kolben mit einem Aspirator verbindet, eingefügt. Das andere Ende der Glasröhre, welche das Porzellanschiffchen enthält, ist durch einen Kork verschlossen, in welchem eine mit Chlorcalciumstücken gefüllte Röhre eingesteckt ist.

Man trocknet zunächst das Porzellanschiffchen mit den Glasstücken und wägt es in einer Röhre, die mit einem mit Stanniol überzogenen Korke verschlossen ist, lässt dann genau 2 CC. Harn aus einer feinen Pipette in das Schiffchen fliessen, schiebt dies in die oben beschriebene an einem Ende ausgezogene Röhre, verschliesst letztere, heizt das Wasserbad und lässt einen mässigen Luftstrom etwa 3 Stunden erst durch das Chlorcalciumrohr, dann über das Schiffchen mit Harn, von da durch das Kölbchen mit titrirter Säure hindurchgehen, wägt darauf wieder das Schiffchen mit dem Harnrückstand in demselben Glasrohre, in dem es vor der Einbringung des Harns gewogen war. Man spült nun das Glasrohr, in welchem das Schiffchen erhitzt wurde, mit Wasser aus und lässt dies Spülwasser in das Kölbchen mit Schwefelsäure einfliessen, nimmt dann dies Kölbchen ab, fügt etwas Lackmuslösung zur enthaltenen Schwefelsäure, bestimmt mit einer sehr verdünnten Natronlauge, wie viel Schwefelsäure während des Trocknens durch Ammoniak neutralisirt ist, und berechnet hieraus die Menge des zersetzten Harnstoffes. Der im Schiffchen gewogene feste Rückstand des Harns addirt zur Quantität von Harnstoff, welche dem in der titrirten Schwefelsäure gefundenen Ammoniak entspricht, giebt dann den wirklichen Ausdruck für das Gewicht der in 2 CC. Harn gelösten Stoffe.

Da es im Ganzen selten von Belang ist, zu wissen, wie viel Wasser und wie viel feste Stoffe ein Harn enthält, möge diese kurze Darstellung der umständlichen Methode genügen, deren genauere Beschreibung in der Anleitung von Huppert, Neubauer und Vogel, 9. Aufl. S. 430 zu finden ist.

Aufsuchung der einzelnen anorganischen Stoffe im Harn ohne vorhergehende Veraschung.

221. Die Untersuchung auf die einzelnen feuerbeständigen anorganischen Stoffe kann in vielen Fällen ohne weitere Vorbereitungen im frischen Harn vorgenommen werden. Enthält der Harn Albuminstoffe, so werden dieselben vorher durch Kochen unter Zusatz von etwas Essigsäure entfernt und nun das Filtrat untersucht. Bei dieser Behandlung bleibt aber ein Theil der phosphorsauren Erden im Coagulum und kann nur nach Veraschung desselben aufgefunden werden.

Der qualitative Nachweis von Schwefelsäure, Phosphorsäure, Chlor, Kalk u. s. w. kann dann in der in den §§ 202 und 203 geschilderten Weise ausgeführt werden, nur hat man sich bei den meisten der erhaltenen Niederschläge zu vergewissern (durch Glühen derselben auf Platinblech), ob sie nicht Harnsäure, harnsaures Ammoniak, Hippursäure, Schleim enthalten.

Speciell das Verhältniss der Phosphorsäure zu den Basen kann man dadurch ermitteln, dass man den Harn mit Aetzammoniak fällt; phosphorsaurer Kalk und phosphorsaure Magnesia-Ammoniak werden gefällt; diejenige Portion Phosphorsäure, welche durch diese Basen nicht gesättigt ist, bleibt in Lösung und kann nach Abfiltriren jener Niederschläge und Concentration des Filtrats durch Abdampfen durch Zusatz von ammoniakalischer Magnesialösung gefällt werden.

Auf Kalium prüft man den Harn durch Fällung mit Platinchlorid

unter Zusatz von Alkohol und Untersuchung des durch Filtration oder Abgiessen getrennten Niederschlags mit dem Spectralapparate. Der Niederschlag enthält nämlich stets Ammoniak und seine Entstehung im Harne ist also für sich allein kein genügender Nachweis des Kalium, vergl. folgenden Paragraphen.

Natrium enthält jeder Harn, dagegen fehlt in pathologischen Harnen öfter das Chlor. Giebt ein Harn mit Salpetersäure und salpetersaurem Silberoxyd keinen Niederschlag, so ist er frei von Chlor.

Untersuchung des Harns auf Ammoniak und quantitative Bestimmung desselben.

222. Enthält ein Harn frisch gelassen bereits Krystalle von phosphorsaurer Magnesia-Ammoniak, so ist nicht daran zu zweifeln, dass er reich an Ammoniak ist; dasselbe ist dann auch durch den Geruch nachzuweisen, und der Harn entwickelt mit Säure gemischt reichlich Kohlensäure. Ein solcher Harn wird aber nur dann entleert, wenn bereits in der Blase Fäulniss des Harns eingetreten ist.

Um in einem neutral oder sauer reagirenden Harne Ammoniaksalze nachzuweisen, versetzt man denselben mit etwas Alkohol, filtrirt, wenn ein Niederschlag entsteht, fügt zum Filtrat einige Tropfen Platinchlorid, lässt einige Stunden stehen, giesst die Flüssigkeit von den ausgeschiedenen Platindoppelsalzen ab, spült den Niederschlag mit etwas Spiritus ab und prüft ihn nach dem Trocknen in einem gleichfalls getrockneten Kölbchen durch Erhitzen. Enthält er Ammoniumplatinchlorid, so sublimirt beim starken Erhitzen Salmiak, der sich weiter oben im Röhrchen als weisse, aus feinen federartigen Nadeln bestehende Masse niederschlägt.

Man kann ferner noch kürzer den Harn auf Ammoniak prüfen, indem man denselben mit einer Mischung von Bleizuckerlösung und Bleiessig fällt, filtrirt und das Filtrat in der Kälte in einem Kolben mit Kalkmilch versetzt, den Kolben mit einem Stopfen verschliesst, an dem ein angefeuchteter Streifen Curcumapapier befestigt ist, welcher die Flüssigkeit noch nicht berührt. Man lässt einige Zeit stehen und beobachtet dann, ob Bräunung des Papiers eingetreten ist; sie tritt wohl immer wenigstens in geringem Grade ein.

Zur quantitativen Bestimmung des Ammoniak im Harne hat Neubauer folgendes Verfahren von Schlösing empfohlen: Unter eine Glasglocke, die mit abgeschliffenem Rande auf einer Glasplatte mit etwas Talg luftdicht aufgesetzt wird, bringt man eine Schale mit 10 CC.

titrirter Schwefelsäure*), darüber setzt man ein Dreieck von Glas und auf dieses eine etwas kleinere Schale enthaltend 10 oder besser 20 CC. des zu prüfenden zuvor filtrirten Harns mit 10 CC. Kalkmilch unmittelbar vor dem Einbringen versetzt. Das Ganze lässt man nun 3 Tage, bei sehr concentrirten Harnen 5—8 Tage ruhig stehen. Man prüft dann, wie viel Natronlauge die 10 CC. Schwefelsäure in der Schale weniger verbrauchen bis zur neutralen Reaction, als der Titer der Lauge und der Säure ergab, und berechnet daraus die Quantität Aetzammoniak, welche aus dem Harne in die Säure übergetreten ist. Jeder Cubikcentimeter Normalnatronlauge, welcher weniger als 10 verbraucht wird, entspricht 17 Milligr. NH_3.

---

*) Zu dieser Bestimmung des Ammoniakgehaltes, ebenso zu der des festen Rückstandes im Harne § 220, ferner zur Bestimmung der freien Säure im Harne kann die Normalsäure von Mohr und die ihr entsprechende Natronlauge in Anwendung gezogen werden. Man fertigt dieselben zweckmässig in folgender Weise an: 1) 53 gr trockenes reines kohlensaures Natron, wie man es durch Erhitzen von doppelt kohlensaurem Natron leicht erhält, werden abgewogen, in Wasser gelöst und zu 1 Liter Lösung verdünnt. Man verdünnt nun 2) eine Portion reiner Schwefelsäure mit etwa dem 20fachen Volumen Wasser, indem man erstere in letzteres eingiesst, und fertigt endlich 3) eine verdünnte Natronlauge an, indem man am Besten frisch aus kohlensaurem Natron und Kalkmilch bereitete Lauge durch Decantiren gut von Kalk befreit oder eine concentrirtere Lauge zunächst bis zu etwa 1,10 spec. Gew. mit Wasser verdünnt. Man lässt 10 CC. der obigen Sodalösung aus einer Bürette in einen kleinen Kolben fliessen, fügt einige Tropfen Lackmus- oder Blauholztinctur und dann aus einer zweiten Bürette 20 CC. der verdünnten Schwefelsäure hinzu, erhitzt zum Kochen, um die Kohlensäure völlig auszutreiben und lässt nun aus einer dritten Bürette von der obigen Natronlauge in kleinen Portionen so lange zufliessen, bis die Farbe der Flüssigkeit nach dem Umschütteln gerade bleibend violett geworden ist. Man liest nun ab, wie viel Natronlauge man verbraucht hat und wiederholt dann denselben Versuch, indem man aber 20 CC. Sodalösung dazu abmisst. Waren beim ersten Versuche 14,4, beim zweiten 5,7 CC. Natronlauge verbraucht, so entsprechen 14,4—5,7 oder 8,7 CC. Natronlauge gerade 10 CC. der Sodalösung; es sind also je 8,7 CC. dieser Lauge mit 1,3 CC. Wasser zu verdünnen, um ihr gleichen Natrongehalt zu geben. Ist somit die Normalnatronlauge angefertigt, so misst man 10 CC. von der verdünnten Schwefelsäure ab, versetzt mit ein wenig Lackmus- oder Blauholztinctur und lässt aus einer Bürette die Normalnatronlauge so lange in kleinen Portionen zufliessen, bis die Neutralität erreicht ist. Sind nun hierzu z. B. 14,7 CC. verbraucht, so hat man je 10 CC. der Schwefelsäure mit 4,7 CC. Wasser zu versetzen, um die Normalschwefelsäure, d. h. eine verdünnte Schwefelsäure von 49 gr SH_2O_4 im Liter zu erhalten, von welcher 1 CC. gerade 1 CC. der Normalnatronlauge, welche 31 gr Na_2O im Liter enthält, entspricht. 1 CC. dieser Normalflüssigkeiten entspricht genau 0,017 gr NH_3; sie entsprechen im Liter in Grammen, im Cubikcentimeter in Milligrammen den Mischungsgewichten der Säuren und Basen und es ist daher leicht damit zu rechnen. Die Anfertigung der Flüssigkeiten ist leicht und schnell auszuführen und wenn dieselben gut verschlossen aufbewahrt werden, bleiben sie lange Zeit unverändert.

Die Bestimmungen von Salkowski und Munk[1]) haben für die Untersuchungen des Menschen-, Hunde- und Kaninchenharn ergeben, dass diese Methode gute Resultate liefert. Die Verwendung von Sodalösung an Stelle der Kalkmilch ist durchaus zu verwerfen.

Für gewisse Fälle eignet sich die etwas umständlichere Methode von Schmiedeberg[2]), nach welcher 200 CC. des Harns mit überschüssigem Platinchlorid und dem 5—6fachen Volumen Alkohol und Aether versetzt, 24 Stunden stehen gelassen, abfiltrirt und getrocknet, dann mit Zink und Salzsäure reducirt werden. Man filtrirt jetzt, destillirt das Filtrat mit überschüssiger Magnesia, fängt das übergehende Ammoniak in bestimmter Quantität Normalschwefelsäure auf, verdampft die gesammte Flüssigkeit in der Vorlage auf kleineres Volumen und titrirt dann mit Normalnatronlauge bis zur Neutralität.

Bestimmung der Schwefelsäure im Harne nach Baumann[3]).

223. Für die Bestimmung des Schwefelsäuregehaltes im Harne sind etwa vorhandene Albuminstoffe zunächst durch Aufkochen einer gemessenen Portion von 100 CC. unter Zusatz einiger Tropfen Essigsäure bis zur guten Klärung, Filtriren und Auswaschen des Niederschlags zu entfernen. Ist der Harn ursprünglich eiweissfrei, so sind 50 bis 100 CC. davon genau abzumessen, mit dem gleichen Volumen Wasser zu versetzen (dieser Wasserzusatz ist bei dem von Eiweiss befreiten Harne wegen des Waschwassers nicht nöthig), mit Essigsäure anzusäuern, mit Chlorbarium in mässigem Ueberschusse zu versetzen, auf dem Wasserbade zu digeriren, bis der Niederschlag sich gut abgesetzt hat, dann zu filtriren durch ein mit verdünnter Salzsäure, dann mit Wasser gewaschenes Filter, der Niederschlag auf dem Filter zu sammeln, zuerst mit Wasser, dann mit verdünnter Salzsäure, zuletzt wieder mit Wasser das Bariumsulfat zu waschen, zu trocknen, im Platintiegel zu glühen und zu wägen. Die gesammten Filtrate vereinigt, werden noch mit etwas Salzsäure versetzt und erhitzt, bis der bei genügend vorhandenem Chlorbarium neu entstandene Niederschlag von Bariumsulfat sich gut abgesetzt hat. Der letztere wird dann gleichfalls auf einem mit Salzsäure gewaschenen Filter gesammelt, zuerst mit Wasser, dann zur Entfernung harziger Substanzen mit Alkohol gewaschen, getrocknet, geglüht und gewogen.

Dieser zweite Niederschlag ergiebt die Quantität der im Harne als aromatische Aetherschwefelsäure enthaltenen Schwefelsäure (B) und der

---

[1]) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 69 S. 365. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2 S. 35.
[2]) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharm. Bd. 7 S. 148.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1 S. 70.

erste Niederschlag von Bariumsulfat die Menge der Schwefelsäure (A), welche sich im Harne als einfaches anorganisches Sulfat befunden hat.

Salkowski[1]) hat eine Modifikation dieses Verfahrens zweckmässig gefunden, nach welchem in zwei verschiedenen Harnproben 1) die Gesammtschwefelsäure und 2) die Aetherschwefelsäure bestimmt wird. Aus der Differenz ergiebt sich die Menge der als anorganisches Salz im Harne vorhandenen Schwefelsäure.

100 CC. unverdünnter oder nach Bedürfniss verdünnter Harn werden mit 10 CC. Salzsäure (1,12 spec. Gew.) 15 Minuten auf dem Drahtnetz (vom beginnenden Sieden an gerechnet) erhitzt, Chlorbarium im Ueberschuss hinzugefügt, auf dem Wasserbade bis zum vollständigen Absitzen des Niederschlags erwärmt und filtrirt. Der Niederschlag entspricht der Gesammtschwefelsäure. Dann werden 100 CC. Harn mit dem gleichen Volumen einer Barytmischung von 2 Vol. kalt gesättigtem Barytwasser und 1 Vol. kalt gesättigter Chlorbariumlösung erhitzt und filtrirt. 160 CC. von dem Filtrate (= 80 CC. Harn) versetzt man dann mit 10 CC. Salzsäure, erwärmt 1 Stunde auf stark kochenden Wasserbade und filtrirt entweder sofort ab oder besser erst nach 24 Stunden. Der Niederschlag entspricht der Aetherschwefelsäure.

Bestimmung des Chlorgehaltes im Harne. Methode von Volhard[2]).

224. Die zahlreichen Methoden zur Bestimmung des Chlorgehaltes im Harne, die vor und neben dem Volhard'schen Verfahren empfohlen und zum Theil lange Zeit in Geltung gewesen sind, stehen demselben an Genauigkeit oder schneller Ausführung so weit nach, dass die eine oder andere derselben wohl jetzt noch der Kürze wegen zur Ermittelung approximativer Werthe in Anwendung gezogen werden kann, dieselben im Uebrigen aber im Wesentlichen nur historisches Interesse besitzen.

Das oben § 208 erwähnte Titrirungsverfahren kann im Harne genaue Resultate nicht liefern, weil der Harn mehr oder weniger andere Stoffe enthält, welche durch Silbernitrat gefällt werden. Bei mittlerem Chlorgehalt ist das Verfahren nur für Näherungswerthe brauchbar, wenn man nicht zu wenig neutrales Kaliumchromat zufügt und für 10 CC. Harn 1 CC. der verbrauchten Silberlösung in Abzug bringt und aus dem Rest den Chlorgehalt berechnet. Der Fehler wird im Ganzen um so grösser, je geringer der Chlorgehalt des Harns ist[3]).

---

[1]) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 79 S. 551 u. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 346.

[2]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 190 S. 24.

[3]) Die Methode von Habel und Fernholz (Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 23

Die zweckmässigste Anpassung der Volhard'schen Methode zur schnellen Bestimmung des Chlor im nicht veraschten Harne ist von Arnold und fast gleichzeitig von E. Salkowski ausgeführt. Den Vorschriften des Letzteren schliesst sich folgende Schilderung an*).

Das Volhard'sche Verfahren beruht auf der vollständigen Fällbarkeit des Chlor der Alkalimetallverbindungen und ebenso der Schwefelcyansäure in stark salpetersaurer Lösung. Eine mit Salpetersäure im Ueberschuss versetzte Flüssigkeit, welche Silbernitrat und Eisenoxydsalz enthält, giebt mit Schwefelcyanammonium erst dann eine Rothfärbung, wenn das Silber bereits vollständig ausgefällt ist.

Zur Ausführung dieser Bestimmung im Harne sind ausser 3 Büretten erforderlich: eine Pipette von 15 oder 30 CC., eine solche von 4 CC. und eine andere von 5 CC. Inhalt, ferner ein Kölbchen mit Marke im Halse für 100 CC., durch Glasstopfen verschliessbar, ein anderes mit Marke für 80 CC. Inhalt und ein nicht mit Marke versehener Kolben von ungefähr 250 CC. Inhalt.

Von Lösungen sind erforderlich: 1) Reine Salpetersäure von 1,2 spec. Gewicht, 2) concentrirte Lösung von chlorfreiem Eisenammoniakalaun, der käuflich leicht rein zu beziehen ist, 3) eine Lösung von Steinsalz in Wasser, enthaltend 10 gr pulverisirtes und geglühtes, kaliumfreies Steinsalz in 1 Liter Lösung, 4) Silbernitratlösung von bekanntem Gehalt, und zwar zweckmässig entweder die in § 208 vorgeschriebene Lösung von 29,063 gr Silbernitrat in 1 Liter (oder eine Lösung entsprechend $^1/_{10}$ der Concentration von Mohr's Normallösung. Man erhält diese $^1/_{10}$ Normallösung durch Auflösen 16,997 gr reinen trocknen Silbernitrats in Wasser und Verdünnen zu 1 Liter), 5) eine titrirte Lösung von Schwefelcyanammoniumlösung.

Um diese letztgenannte Lösung anzufertigen, löst man 7 gr reines käufliches Schwefelcyanammonium in Wasser, verdünnt zu 1100 CC. und füllt mit der gut gemischten Lösung zunächst eine Bürette. Man lässt von obiger Silberlösung 10 CC. in einen Kolben fliessen, verdünnt auf 100 CC. giebt 4 CC. der obigen Salpetersäure und 5 CC. der Eisenammoniaklösung hinzu, schüttelt um und lässt dann die Schwefelcyan-

S. 85) kann genaue Werthe liefern, giebt aber die Vortheile einer volumetrischen Methode durch ihre Umständlichkeit und Mangel passender Endreaction auf. Das Verfahren von Latschenberger und Schumann (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3 S. 161) bietet keine Vortheile.

*) Arnold, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 81. E. Salkowski, Centralbl. f. d. med. Wiss. 1881 S. 177. Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 285 u. E. Salkowski und Leube, Die Lehre vom Harne. Handbuch. Berlin, Hirschwald. 1882. S. 168. Vorausgegangen waren die Untersuchungen von F. A. Falk, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 8 S. 12.

ammoniumlösung in kleinen Portionen so lange zu dieser Mischung in einzelnen Portionen fliessen, bis die Rothfärbung der Flüssigkeit beim Umschütteln bleibend wird, aber noch schwach ist. Man wiederholt diese Titrirung und verdünnt dann 1 Liter der Schwefelcyanammoniumlösung bis 25 CC. von ihr äquivalent geworden sind 10 CC. der obigen Silberlösung, von welcher 1 CC. gerade 10 Milligrm. Na Cl entspricht. Benutzt man statt dieser eine $^1/_{10}$ Normalsilberlösung, so kann man die Schwefelcyanammoniumlösung derselben äquivalent anfertigen, so dass 10 CC. der einen gerade hinreichen, um aus 10 CC. der andern das ganze Silber und das ganze Schwefelcyan auszufällen.

Zur Ausführung der Chlortitrirung im Harne, welcher eiweissfrei sein muss, werden 10 CC. von demselben abgemessen in den Kolben mit der Marke für 100 CC., dann ungefähr 50 CC. Wasser, darauf 4 CC. obiger Salpetersäure und 15 CC. von der Silberlösung (oder 30 CC. der $^1/_{10}$ Normallösung) hinzugefügt, mehrmals nach Aufsetzen des Stopfens gut durchgeschüttelt, mit Wasser bis zur Marke gefüllt, abermals gut gemischt. Nachdem sich der Niederschlag von Chlorsilber abgesetzt hat, und dies geschieht schnell, wird die Mischung in den Kolben mit der Marke für 80 CC. filtrirt, bis das Filtrat gerade 80 CC. beträgt. Man schüttet dann das Filtrat in einen Kolben von 250 CC. Inhalt, spült mit ein paar Tropfen Wasser nach, fügt dann 5 CC. Eisenoxydammoniakalaunlösung hinzu und lässt nun aus der Bürette in kleinen Portionen so lange die titrirte Schwefelcyanammoniumlösung hinzufliessen, bis beim Umschütteln bleibende schwache Rothfärbung der Flüssigkeit erreicht ist und liest dann die Quantität der hierzu verbrauchten Schwefelcyanammoniumlösung ab. Es ist bei dieser Titrirung erfahrungsgemäss angenommen, dass 15 CC. der ersteren Silberlösung (oder 30 CC. der $^1/_{10}$ Normalsilberlösung) nicht allein hinreichen, um das ganze Chlor aus dem mit Salpetersäure stark angesäuerten Harn auszufällen, sondern noch überschüssiges Silbernitrat in Lösung lassen. Dieser Ueberschuss von Silber wird dann mit Schwefelcyanammoniumlösung volumetrisch bestimmt und dann der Chlorgehalt aus dem Deficit berechnet.

War zu 10 CC. Harn nach Salpetersäurezusatz und Mischung mit 50 CC. Wasser 15 CC. der Silberlösung, von welcher 1 CC. äquiv. 10 Milligrm. Na Cl ist, hinzugefügt, auf 100 CC. mit Wasser aufgefüllt, filtrirt und 80 CC. vom Filtrat abgemessen, in diesen 80 CC. nach Zusatz von Eisenoxydammoniakalaun und Titrirung mit Schwefelcyanammoniumlösung (25 CC. derselben äquiv. 10 CC. Silberlösung) die bleibende Rothfärbung der Mischung nach Zusatz von 6,4 CC. Schwefelcyanammoniumlösung eingetreten, so befanden sich in diesen 80 CC. noch

$\frac{10 \,.\, 6{,}4}{25} = 2{,}56$ CC. Silberlösung oder in 100 CC. der Mischung 3,2 CC. derselben. Es sind sonach 15—3,2 = 11,8 CC. der Silberlösung = 118 Milligrm. NaCl oder 71,5 Milligrm. Chlor in den 10 CC. Harn aufgefunden.

Waren dagegen zu 10 CC. Harn, auf gleiche Weise im Uebrigen behandelt, 30 CC. $^{1}/_{10}$ Normalsilberlösung zugesetzt und dann in 80 CC. Filtrat mit 7,9 CC. der Schwefelcyanammoniumlösung (1 CC. äquiv. 1 CC. $^{1}/_{10}$ Normalsilberlösung) die Endreaction (bleibende schwache Rothfärbung der Flüssigkeit) erreicht, so waren 9,87 Silberlösung in den 100 CC. Mischung von Chlor nicht gefällt, das Chlor in 10 CC. Harn hatte 20,13 CC. $^{1}/_{10}$ Normalsilberlösung gefällt, betrug also, da 1 CC. dieser Lösung äquival. 3,546 Milligrm. Chlor ist, 71,4 Milligrm. entsprechend 118 Milligrm. NaCl.

Ist der Harn sehr dunkel gefärbt, so ist es zweckmässig neben dem Eisenoxydammoniakalaun schliesslich bei der Titrirung einige Tropfen einer concentrirten Lösung von übermangansaurem Kali zuzufügen, welche Entfärbung bewirken.

Um mit der Methode von Volhard im Hundeharne gute Resultate zu erhalten, muss man zunächst die unterschweflige Säure, die Schwefelcyansäure durch Reduction mit Zink und Schwefelsäure entfernen[1]).

Ist endlich der Harn reich an Schleim oder enthält er Eiweiss oder Pepton, so ist die Chlortitrirung mit der Asche vorzunehmen nach § 208, und es kann dieselbe in der dort angegebenen einfacheren Weise vorgenommen werden entweder mit der dort beschriebenen Silberlösung oder mit $^{1}/_{10}$ Normalsilberlösung.

Zum Veraschen des Harns für diesen Zweck werden 10 CC. Harn in einer Platinschale abgedampft, der Rückstand ungefähr mit 1 gr chlorfreier Soda und 2—4 gr reinem Salpeter versetzt und von einer Seite her beginnend stärker bis zum Schmelzen und Entfernung der Kohle erhitzt, die Schmelze nach dem Erkalten in Wasser bei mässigem Erwärmen gelöst, mit Salpetersäure stark angesäuert in einen Kolben gebracht und mit einer Messerspitze Calciumcarbonat oder nach Salkowski mit einer Lösung von Natriumcarbonat neutralisirt und ohne zu filtriren nach Zusatz von wenigen Tropfen neutralen chromsauren Kalis mit der Silberlösung titrirt[2]).

---

[1]) v. Mering, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 8 S. 229.
Gruber, Zeitschr. f. Biolog. Bd. 19 S. 569.

[2]) Diese Methode ist im Wesentlichen von Neubauer (Anleitung zur qual. u. quant. Anal. d. Harns, ältere bis 7. Aufl.) angegeben, — modificirt von Salkowski, indem er den Sodazusatz einführte, um eine Verflüchtigung von Salzsäure beim

Bestimmung der Phosphorsäure im Harne.

225. Der Phosphorsäuregehalt des Harns kann ohne vorausgehende Veraschung mit hinreichender Genauigkeit durch Titriren mit essigsaurem Uranoxyd bestimmt werden. Zur Ausführung dieser Bestimmung misst man 50 CC. (von concentrirten Harnen genügt schon eine Quantität von 20 CC.) des Harns in ein Becherglas, fügt von der nach § 210 angefertigten Essigsäuremischung 5 CC. (oder wenn nur 20 CC. genommen waren, 2 CC.) hinzu, erhitzt diese Mischung auf dem Wasserbade und lässt nun in kleinen Portionen die titrirte Uranlösung so lange einfliessen, bis ein Tropfen der Flüssigkeit mit einem Tropfen Ferrocyankaliumlösung eine erkennbare bräunliche Färbung giebt. Die ganze Titrirung geschieht nach den Vorschriften, die in § 210 u. § 211 ausführlich beschrieben sind.

Eine noch grössere Genauigkeit erhält die Bestimmung nach den Angaben Neubauer's, wenn man durch Chlorammonium, Ammoniak und etwas schwefelsaure Magnesia erst die Phosphorsäure ausfällt, einige Stunden stehen lässt, filtrirt, die Phosphate auf dem Filter sammelt, trocknet, mit dem Filter verascht, in wenig Salzsäure löst und nun mit Essigsäuremischung versetzt und in obiger Weise titrirt. Diese Bestimmung ist jedoch kaum weniger umständlich als die Veraschung des Harns und nachherige Bestimmung der Phosphorsäure in der Asche.

Bestimmung des Gehaltes an Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium im Harne.

226. Wenn auch die Bestimmung der anorganischen Stoffe im Harne genauer nach vorausgehender Veraschung auszuführen ist, kann man doch meist mit hinreichender Genauigkeit auch ohne Veraschen ausser Schwefelsäure, Chlor, Phosphorsäure, auch Calcium, Magnesium in einem abgemessenen Volumen Harn nach denselben Methoden, welche oben in den §§ 205 bis 211 beschrieben sind, fällen und bestimmen. Ist der Harn eiweisshaltig, so ist in allen Fällen vorherige Veraschung erforderlich.

Die Bestimmung der Summe des Kalium und Natrium im Harne kann nach Abdampfen von 20—100 CC. Harn (je nach der Concentration desselben) in einem nicht zu grossen Porzellanschälchen ausgeführt werden durch vorsichtiges allmäliges Erhitzen des rückständigen Syrups unter Umrühren mit einem Platinspatel oder Draht, bis die empy-

---

starken Erhitzen zu vermeiden (Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1 S. 16, Bd. 2 S. 397; vergl. auch Feder u. Voit, Zeitschr. f. Biol. Bd. 16 S. 193).

reumatischen Stoffe verflüchtigt sind und die Kohle zu verbrennen beginnt. Man lässt erkalten, extrahirt die zerkleinerte Masse mit kochendem Wasser mehrmals, filtrirt durch aschefreies Filter, trocknet den Rückstand und verascht ihn mit dem Filter bei stets mässiger Erhitzung, extrahirt dann die Asche abermals mit siedendem Wasser oder mit verdünnter Salzsäure und bestimmt die Alkalimetalle in der § 204 angegebenen Weise.

Lehmann[1]) empfiehlt 50—100 CC. Harn (je nach spec. Gewicht desselben) unter Zusatz von 3—4 gr Ammoniumsulfat auf dem Wasserbade zur Trockne abzudampfen und dann zu veraschen. Ist die Asche nicht ganz weiss, so werden einige Tropfen Schwefelsäure zugefügt, abgeraucht und geglüht. Die Asche wird in heisser verdünnter Salzsäure gelöst, filtrirt, ausgewaschen und mit Barytwasser bis zur alkalischen Reaction versetzt und nach § 204 weiterhin Kalium und Natrium getrennt und bestimmt.

Eine Verwendung von salpetersauren Salzen und von Platingefässen für die Veraschung ist durchaus nicht zu rathen, da durch erstere leicht ein Verspritzen von Partikeln und in der letzteren Verflüchtigung von Alkalimetallen eintritt.

Salkowski[2]) hat zur schnellen Bestimmung des Kaliumgehaltes empfohlen, 100—200 CC. Harn auf etwa 15 CC. einzudampfen, nach dem Erkalten die harnsauren Salze abzufiltriren und die Flüssigkeit mit 5 CC. concentrirter Weinsäurelösung versetzt, an einem kühlen Orte stehen zu lassen. Nach 24 Stunden hat sich das saure weinsaure Kali abgesetzt, es wird durch Decantiren und Waschen auf dem Filter, zuerst mit schwachem Weingeist, dann mit Alkohol von 80 pCt. bis zum Verschwinden der Chlorreaction im Filtrate, leicht rein erhalten und kann dann bei 100° getrocknet und gewogen werden. Resultate annähernd. Genauer, aber viel umständlicher ist die Fällung durch Platinchlorid. Das saure weinsaure Salz könnte durch Abdampfen mit Schwefelsäure und Glühen in reines SO_4K_2 verwandelt und dies gewogen werden.

Nachweis von salpetersauren und salpetrigsauren Salzen im Harne.

227. Bence Jones[3]) fand, dass der Harn verschiedener Personen Anzeichen eines Gehaltes an Salpetersäure oder salpetriger Säure gab.

Schoenbein hat dann durch die folgende Methode erwiesen, dass der Harn, obwohl er stets reducirende Stoffe in reichlicher Quantität führt (Entfärbung von

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 8 S. 508.
[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 3 S. 351, Bd. 4 S. 209.
[3]) Philos. Transact. 1851 S. 499.

blauem Jodkleister), zugleich entweder salpetersaures oder salpetrigsaures Salz enthält. Er bediente sich zum Nachweis der salpetrigen Säure entweder eines dünnen Stärkekleisters, der mit etwas Jodkalium und sehr verdünnter Schwefelsäure versetzt war, oder einer mit Wasserstoffschwefel entfärbten Indigolösung, welche auf folgende Weise bereitet wurde. In Wasser durch Indigotinctur bis zur Undurchsichtigkeit tief gebläut und mit etwas Schwefelsäure versetzt tröpfelt man unter Umrühren die Lösung von Mehrfachschwefelkalium, bis das Gemisch vollständig entbläut erscheint. Dasselbe filtrirt, liefert eine vollkommen klare und farblose Flüssigkeit, welche jedoch bald anfängt sich zu trüben in Folge der eintretenden Zersetzung des Wasserstoffschwefels, und hat man bei der Darstellung dieser Versuchsflüssigkeit nicht mehr Schwefelleberlösung angewendet, als genau zur vollständigen Entbläuung der Indigotinctur nöthig war, so hält auch die Bläuung der Flüssigkeit mit ihrer Trübung, welche von ausgeschiedenem Schwefel herrührt, gleichen Schritt.

Diese Versuchsflüssigkeit wird durch Ozon, die Superoxyde von Mangan, Blei u. s. w., die Uebermangan-, Chrom-, unterchlorige und salpetrige Säure und deren Salze ebenso durch Eisenoxyd und seine Lösungen in Säuren, endlich auch durch Chlor, Jod, Brom, wenn sie nicht im Ueberschuss angewendet werden, gebläut.

Der Harn zeigt nun keinen Gehalt an salpetriger Säure gegen diese Reagentien, so lange er klar ist, giebt sie aber, sowie er sich durch saure Gährung nach einigen Tagen trübt; später bei der alkalischen Gährung verliert er den Gehalt an salpetriger Säure. Schoenbein glaubte, dass der Harn salpetersaures Salz enthalte, welches bei dieser Gährung in salpetrigsaures umgewandelt werde.

Obwohl freie salpetrige Säure durch Harnstoff schnell zerstört wird, beeinträchtigt die Gegenwart von Harnstoff durchaus nicht die Bläuung eines angesäuerten Jodkaliumkleisters, wenn man einen Tropfen einer Lösung von salpetrigsaurem Kali hinzufügt.

Die Angaben von Schönbein sind durch Untersuchungen von Röhmann[1]) bestätigt. Röhmann fand ausserdem, dass salpetrige Säure im faulen Harne nur auftritt, wenn der frische Harn Salpetersäure enthielt, dass nie salpetrige Säure im faulenden Harne durch Oxydation von Ammoniak entsteht. Er stellte fest, dass der Harn bei Hunger, Milch- oder Fleischnahrung Salpetersäure nicht enthält, Nitrat aber in den Harn übergeht, wenn es wie in Vegetabilien mit der Nahrung eingeführt wird. Für die Bestimmung der Salpetersäure im Harne hat Röhmann die Methode von Fr. Schulze[2]) benutzt und sehr brauchbar gefunden. Das Princip derselben gründet sich auf die quantitativ genaue Reduction der Salpetersäure zu Stickoxyd beim Kochen der sie enthaltenden Lösung mit Salzsäure und Eisenchlorür und für die Ausführung dieser Bestimmung ist von Schulze eine vortreffliche Anordnung einfacher Apparate construirt, welche für Salpetersäurebestimmungen allgemein gute Verwendung findet und in welcher

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 94 u. 233.

[2]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 8 S. 358. Tiemann, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 6 S. 1038 u. 1041.

das entwickelte Stickoxyd über Natronlauge aufgefangen volumetrisch bestimmt wird.

Weyl[1]) destillirt zum Nachweis der Salpetersäure im Harne 200 CC. mit 30—40 CC. Schwefelsäure oder Salzsäure auf dem Sandbade und prüft das Destillat mit den üblichen Reactionen (m-Phenylendiamin, Sulfanilsäure und α-Naphtylamin) auf die Anwesenheit von salpetriger Säure, welche durch die reducirend wirkenden organischen Harnbestandtheile aus der Salpetersäure entstanden ist.

Aufsuchung von Wasserstoffsuperoxyd im Harne.

Nach Schoenbein's Untersuchungen sind die genauesten Reagentien für Wasserstoffsuperoxyd 1) die im Vorstehendem beschriebene durch Wasserstoffschwefel entfärbte Indigolösung in Verein mit Eisenvitriollösung und 2) verdünnte Indigotinctur gleichfalls zusammen wirkend mit Eisenvitriollösung. Schoenbein sagt nun, dass, wenn man in 200 gr frischen Harn so viel Indigolösung tröpfele, dass das Gemisch eine deutlich grüne Färbung zeige und nun dasselbe in zwei gleiche Hälften theile, zu einer derselben 15—20 Tropfen verdünnte Eisenvitriollösung füge, diese letztere Harnportion bald heller grün oder bräunlich gelb erscheine, welche Farbenveränderung von theilweiser oder gänzlicher Zerstörung des Indigo herrühre, während die eisensalzfreie Hälfte ihre anfängliche grüne Farbe noch immer zeige. Lässt man ferner in 30—40 gr frischen Harns 8—12 Tropfen durch Wasserstoffschwefel genau entfärbte Indigotinctur fallen, so wird das Gemisch anfangs sich nicht bläuen, dies aber beim Zufügen einiger Tropfen Eisenvitriollösung sofort thun.

Der Gehalt des frischen Harns an Wasserstoffsuperoxyd zeigt Schwankungen, deren Ursachen nicht bekannt sind. Beim Stehen verliert sich der Gehalt an Wasserstoffsuperoxyd gänzlich, sobald die salpetrige Säure auftritt.

Bestimmung des Gesammtstickstoffs im Harne oder anderen Flüssigkeiten und Bestandtheilen des Organismus nach Kjeldahl.[2])

228. Diese Methode beruht auf der Ueberführung des Stickstoffs organischer Substanzen in Ammoniak durch Erhitzen mit concentrirter Schwefelsäure und Bestimmung der Menge des gebildeten Ammoniak auf titrimetrischem Wege. Sie eignet sich nicht nur für den Harn, sondern für alle Ausscheidungen und Bestandtheile des Körpers und wird in folgender Weise ausgeführt:[3])

In einem Rundkölbchen aus hartem Glas von ca. 15 cm Halslänge und 200 CC. Inhalt bringt man ca. 25 CC. einer Mischung[4]) von reiner

[1]) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 96 S. 462, Bd. 101 S. 175. Arch. f. d. ges. Physiologie Bd. 36 S. 456.

[2]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 22 S. 366.

[3]) Im Wesentlichen nach den Angaben von Argutinsky, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 46 S. 581.

[4]) Die Reagentien müssen vollständig frei von Ammoniak sein.

concentrirter Schwefelsäure und Phosphorsäureanhydrid (auf 1 Liter H_2SO_4 200 gr P_2O_5), 0,1 CC. Quecksilber[1]) und die zu prüfende Substanz[2]) (bei Harn 5 CC.), erhitzt dann den in schräger Lage auf dem Drahtnetz liegenden Kolben anfangs mit kleiner, später mit grosser Flamme und erhält die Flüssigkeit in lebhaftem Sieden, bis sie ganz farblos geworden ist. Das ist bei Harn nach ½, bei Fäces, Fleisch nach 1—1½ Stunden erreicht. Die Flüssigkeit wird nach dem Erkalten sammt den Ausscheidungen quantitativ in einen grossen Erlenmeyer-schen Kolben (a) (siehe Figur 3) übergeführt, mit einigen Messerspitzen Talk und dann mit soviel einer Alkalilauge (spec. Gewicht ungefähr 1,25) versetzt, dass die Reaction noch deutlich sauer ist.[3]) Nach dem Er-

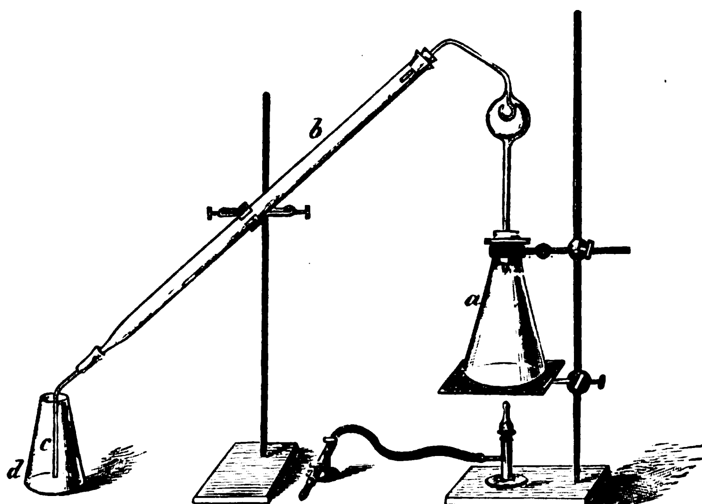


Fig. 3.

kalten fügt man weiter Lauge zu bis zur deutlich alkalischen Reaction aber unter Vermeidung eines grossen Ueberschusses, ausserdem, um das entstandene Quecksilberamid zu zerlegen, ca. 12 CC. einer Schwefelkaliumlösung (1 Thl. K_2S in 1,5 Thl. Wasser) und verbindet nun schnell den Kolben mit dem Aufsatz, welcher dazu dient, das Ueberspritzen alkalischer Flüssigkeit während des Destillirens zu verhindern, und seinerseits

[1]) Wilfarth, Chem. Centralbl. (3) Bd. 16 S. 17 u. 113.

[2]) Pulverige oder halbflüssige Substanzen wiegt man am Besten in kleinen Schiffchen aus Zinnfolie ab, welche sich leicht so zusammen legen lassen, dass das Zinn die Substanz völlig umhüllt und in Form kleiner Packete durch den langen Hals in den Kolben hineingeschoben werden können.

[3]) Die erforderliche Menge bestimmt man durch einen Vorversuch.

mit der ca. 10 cm weiten und 60 cm langen Glasröhre b verbunden ist, an deren unterem Ende ein engeres Rohr c angefügt ist, welches in den Kolben d führt. In diesen Kolben hat man schon vorher eine bestimmte Menge $^1/_{10}$ Normalschwefelsäure eingebracht. Die Quantität ist nach dem Stickstoffgehalt des zu untersuchenden Materials zu bemessen, bei Harn nimmt man 50 CC. Die Destillation wird jetzt sofort begonnen; das Rohr c muss von Anfang an in die Schwefelsäure eintauchen; wenn ca. 100 CC. übergegangen sind, zieht man dasselbe bis über das Niveau der Flüssigkeit heraus und lässt die Destillation noch einige Minuten fortgehen, damit b und c vollständig ausgewaschen werden. Die Röhre b muss die angegebene Weite haben, damit das bei den starken Druckschwankungen im Kolben a gelegentlich zurücksteigende Destillat vollständig in ihr Platz findet. Der Vorsicht halber kann sie noch mit einem Liebig'schen Kühler umgeben werden, doch haben die Erfahrungen gelehrt, dass auch ohne Kühlvorrichtung kein Ammoniak verloren geht, wenn nur das Rohr c stets in die Schwefelsäure eintaucht. Nach Beendigung der Destillation wird die vorgelegte Schwefelsäure mit $^1/_{10}$ Normalalkali unter Benutzung einer alkoholischen Lösung von Cochenille als Indikator zurücktitrirt. Jeder CC., den man weniger verbraucht, entspricht 0,0017 gr NH_3 oder 0,0014 gr N.

Hat man gleichzeitig eine grösere Anzahl von Bestimmungen auszuführen, so empfiehlt es sich die Anordnung von Apparaten zu benutzen, wie sie z. B. von Heffter, Hollrung und Morgen*) angegeben worden ist.

Nachweis und Bestimmung des Harnstoffs im Harne.

229. Zum Nachweis des Harnstoffs wird eine Portion Harn auf dem Wasserbade zum dünnen Syrup verdunstet, mit Alkohol versetzt, filtrirt, das Filtrat wieder auf dem Wasserbade verdunstet und der syrupöse Rückstand nach vollsändigem Erkalten tropfenweise mit concentrirter reiner Salpetersäure versetzt, so lange die Bildung eines Niederschlags zu beobachten ist. Ein geringer Ueberschuss von Salpetersäure ist nöthig. Im Uebrigen gelten die § 75 angegebenen Vorschriften.

Zur Bestimmung des Harnstoffs im Harne ist in allen denjenigen Fällen, wo es sich nicht um die möglichste Genauigkeit handelt, die Titrirung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd jeder anderen Methode vorzuziehen, da sie leicht und schnell ausführbar ist und keine

*) Chem. Zeitg. Bd. 8 S. 432.

der übrigen zur Bestimmung des Harnstoffs im Harne vorgeschlagenen Methoden völlig frei von Ungenauigkeit ist. Da jedoch durch das salpetersaure Quecksilberoxyd ausser Harnstoff auch die meisten anderen stickstoffhaltigen Bestandtheile des Harns gefällt werden, so giebt diese Titrirung eigentlich mehr eine Bestimmung des Gesammtstickstoffs im Harne als eine reine Harnstoffbestimmung.

Man hat hauptsächlich die Spaltungen des Harnstoffs 1) mit Wasser zu Kohlensäure und Ammoniak, 2) in Stickstoff, Kohlensäure und Wasser durch Oxydation, von denen die erstere durch Gährung, Erhitzen mit Wasser oder mit Säure oder mit Alkalilauge, die zweite durch Einwirkung von salpetriger Säure oder von unterchlorigsaurem Natron oder einer concentrirten Lösung von Brom in Natronlauge herbeigeführt wird, zur Bestimmung des Harnstoffs verwendet, indem man bei der ersteren Zersetzung entweder die CO_2 oder das NH_3 und bei der zweiten entweder wiederum die CO_2 oder das entwickelte Stickstoffgas bestimmte.

Die von Bunsen[1]) vorgeschlagene Methode der Zerlegung des Harnstoffs durch Erhitzen mit ammoniakalischer Chlorbariumlösung über 200° und Bestimmung des gebildeten kohlensauren Baryt gilt für die genaueste Bestimmungsmethode, ist aber insofern nicht fehlerfrei, als ausser den substituirten Harnstoffen auch die als Guanidine anzusehenden Körper z. B. Kreatinin bei dieser Behandlung CO_2 und NH_3 liefern. Derselbe Vorwurf trifft auch die sämmtlichen übrigen Bestimmungsmethoden, diese sind aber aus anderen Gründen noch weniger genau. Die von Heintz[2]) und Ragsky empfohlene Methode der Zerlegung durch Erhitzen mit Schwefelsäure und Bestimmung des gebildeten NH_3 giebt recht gute Resultate, stimmt im Wesentlichen mit Kjeldahl's Stickstoffbestimmung überein, ist aber weniger genau. Einige Versuche der Zerlegung des Harnstoffs durch Gährung und alkalimetrische Bestimmung des Ammoniak versprechen nicht ungünstige Resultate.

Die sämmtlichen Methoden hingegen, welche sich der Zerlegung des Harnstoffs durch salpetrige Säure oder durch unterchlorigsaures oder unterbromigsaures Alkali bedienen, geben weniger sichere Werthe als eine sorgfältige Titrirung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd und sind höchstens dann vorzuziehen, wenn die Harnstoffbestimmung in sehr geringen Flüssigkeitsmengen auszuführen ist.

Die zuerst von Millon[3]) erfundene Methode der Behandlung des Harns mit einer Lösung von Quecksilber in starker Salpetersäure, die nach

1) Ann. Chem. Pharm. Bd. 65 S. 375.
2) Ebendas. Bd. 57 S. 29. Pogg. Ann. Bd. 66 S. 114.
3) Compt. rend. T. 26 p. 119.

Hoppe-Seyler's Erfahrung fast immer zu niedrige Werthe ergiebt, wenn man aus der entwickelten CO_2quantität den Harnstoff berechnet, hat manche Modificationen erhalten. Gréhant[1]) bringt den zu untersuchenden Harn in das Vacuum der Quecksilberluftpumpe, lässt starke Millon-sche Quecksilberlösung hinzufliessen, erwärmt und misst die Quantität der entwickelten CO_2 und des Stickstoffs. Boymond[2]) lässt in einem Geissler'schen Kohlensäurebestimmungsapparate die Millon'sche Lösung zum Harne treten, bestimmt den durch Entweichen der CO_2 und des Stickstoffs bewirkten Gewichtsverlust und rechnet ebenso wie Gréhant bei dieser Zerlegung des Harnstoffs auf Entweichen von CO_2 und N_2 im Verhältniss ihrer Molecüle, was nachweisbar unrichtig ist, da salpetersaures Ammoniak mit salpetriger Säure beim Erwärmen gleichfalls Stickstoff entwickelt. Endlich haben Davy[3]) und Leconte[4]) Methoden angegeben zur Bestimmung des Harnstoffs im Harne durch Zersetzung mit unterchlorigsaurem Natron und Messung der entwickelten Stickstoffmengen, und Knop[5]) und Huefner[6]) haben den Harnstoff mit concentrirter Lösung von Brom in Natronlauge zerlegt und den entwickelten Stickstoff gemessen.

Es würde zu weit führen, alle diese Vorschläge und Methoden zu besprechen, und wird genügen, die Methoden von Bunsen, von Huefner, von Pflüger und Bleibtreu und von Mörner und Sjöqvist etwas näher anzugeben, die wichtigste von allen aber, die Liebig'sche Titrirmethode, ausführlich zu beschreiben.

Titrirung des Harnstoffs mit salpetersaurem Quecksilberoxyd nach Liebig.

Princip der Methode und Anfertigung der Titrirflüssigkeit.

230. Fügt man zu einer verdünnten Harnstofflösung eine Lösung von salpetersaurem Quecksilberoxyd, so entsteht, wenn kein Kochsalz zugegen ist, sofort ein weisser Niederschlag, welcher Harnstoff, Salpetersäure und Quecksilberoxyd enthält, fügt man die Quecksilberoxydlösung dann in ziemlich continuirlichem Strome, so lange als sich noch Niederschlag bildet, und selbst einen geringen Ueberschuss davon hinzu, so hat der Niederschlag constant die Zusammensetzung $2(CH_4N_2O), N_2O_5 + 4HgO$. Enthält die Harnstofflösung Chlornatrium, so bildet sich

[1]) Journ. de l'anat. et de la physiol. Mai—Juin 1870 p. 318.
[2]) M. Boymond, De l'urée. Paris 1872.
[3]) Philos. Magaz. Vol. 7 p. 385.
[4]) Compt. rend. T. 47 p. 237.
[5]) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 9 S. 225.
[6]) Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 3 S. 1.

zunächst beim Hinzufügen von Quecksilberoxydlösung Quecksilberchlorid und salpetersaures Natron, und da das Quecksilberchlorid den Harnstoff nicht fällt, entsteht in einer Lösung, die ausser Harnstoff auch Chlornatrium enthält, beim allmäligen Zufügen von salpetersaurem Quecksilberoxyd erst dann ein Niederschlag, wenn alles Chlor bereits an Quecksilber gebunden ist. Auf dieses Verhalten hat Liebig die Titrirung des Chlornatrium im Harne gegründet, indem er den entstehenden Niederschlag als Endreaction der Titrirung benutzte. Für die Titrirung des Harnstoffs bedingt aber die fast constante Gegenwart von Chlornatrium im Harne eine Ungenauigkeit, die entweder durch eine Schätzung corrigirt, oder durch eine der Titrirung vorausgehende Ausfällung des Chlors durch Silberlösung vermieden wird. Da auch phosphorsaure Salze einen Niederschlag mit Quecksilberoxydsalzen geben, so ist der Harn von der Phosphorsäure vor der Harnstofftitrirung zu befreien. Eine Harnstofflösung, welcher salpetersaures Quecksilberoxyd in einer zur Ausfällung des gesammten Harnstoffs nicht zureichenden Menge zugesetzt ist, giebt mit kohlensaurem Natron im Ueberschuss versetzt einen weissen Niederschlag, ist dagegen der Harnstoff bereits ausgefällt durch die Quecksilberlösung und ein geringer Ueberschuss der letzteren zugesetzt, so giebt kohlensaures Natron mit der Mischung einen gelben Niederschlag. Dieses letztere Verhalten dient als Endreaction bei der Titrirung des Harnstoffs.

Zur Ausführung der Titrirung sind ausser einer Lösung von kohlensaurem Natron oder mit Wasser angerührtem Brei von doppelt kohlensaurem Natron*) folgende Flüssigkeiten anzufertigen:

1) Barytmischung. Man mischt 2 Vol. kalt gesättigtes Barytwasser mit 1 Vol. gleichfalls kalt gesättigter Lösung von salpetersaurem Baryt und bewahrt die Mischung in gut verschlossener Flasche auf.

2) Harnstofflösung. Man löst 6 gr bei 100° längere Zeit getrockneten reinen Harnstoff in etwas Wasser und verdünnt die Lösung zu 300 CC.

3) Natriumcarbonatlösung. 53 gr reines geglühtes Natriumcarbonat werden in Wasser gelöst und zu 1 Liter Lösung mit Wasser verdünnt.

4) Titrirte Quecksilberlösung. Zu ihrer Anfertigung verdünnt man concentrirte käufliche Lösung von reinem salpetersauren Quecksilberoxyd (welche mit NaCl-Lösung keine Trübung geben darf) mit Wasser bis das spec. Gewicht der Mischung ungefähr 1,10 beträgt,

*) Rautenberg, Ann. Chem. Pharm. 1865 Bd. 133 S. 55.

füllt mit der Mischung eine Bürette und prüft ihren Gehalt zunächst in folgender Weise.

Mittelst einer Bürette oder Pipette werden 10 CC. der obigen Harnstofflösung in ein Becherglas abgemessen, aus einer andern Bürette von obiger Sodalösung ein Paar Cubikcentimeter in ein Uhrglas abgemessen, dasselbe auf eine schwarze Unterlage gestellt, dann in einzelnen Portionen so lange Quecksilberlösung in die Harnstofflösung einfliessen gelassen, bis eine Probe der gut umgerührten Mischung mit dem Glasstabe in die Sodalösung gebracht und vom Rande des Uhrglas in dieselbe einfliessend in wenigen Secunden eine gelbe Färbung deutlich erkennen lässt. Man giesst dann die Sodalösung mit den einzelnen Proben aus dem Uhrglase zur Harnstoffquecksilbermischung, fügt Natriumcarbonat aus der Bürette noch so lange hinzu, bis die Mischung ganz schwach sauer reagirt und prüft abermals einen Tropfen der Mischung mit einigen Tropfen Sodalösung, ob die gelbe Endreaction eintritt. Ist dies nicht der Fall, so fügt man noch so lange kleine Portionen Quecksilberlösung hinzu, bis eine der Mischung entnommene Probe mit Sodalösung die gelbe Endreaction giebt, neutralisirt nahezu mit gemessener Portion Sodalösung und prüft abermals. Hat man auf diese Weise annähernd ermittelt, 1) wie viel Quecksilberlösung zur Harnstofflösung zuzufügen ist, um die gelbe Endreaction zu erhalten und 2) wie viel Cubikcentimeter Sodalösung zur annähernden Neutralisirung erfordert werden, so wiederholt man die ganze Titrirung, indem man zu 10 CC. der Harnstofflösung gleich auf einmal so viel Quecksilberlösung und unter fortdauerndem Umrühren so viel Sodalösung zufliessen lässt, als die erste Titrirung als erforderlich erwiesen hat. Bringt man dann eine Probe der Mischung auf einem Uhrglase mit einigen Tropfen Sodalösung oder einem Brei von Natriumbicarbonat zusammen, so wird die gelbe Endreaction nicht eintreten, ohne dass eine oder mehrere kleine Portionen Quecksilberlösung noch hinzugefügt sind, zugleich gemessene kleine Portionen von Sodalösung die Säure genügend neutralisirt haben. Wiederholt man diese Titrirung abermals in derselben Weise, indem man nämlich sofort die ganze durch die zweite Titrirung nothwendig befundene Quantität Quecksilberlösung zur Harnstofflösung hinzufügt, darauf sogleich die gleichfalls corrigirte Natriumcarbonatmenge unter stetem Umrühren einfliessen lässt, so wird jetzt entweder sofort die Endreaction bei Einbringung einer Probe der Mischung in ein Paar Tropfen Sodalösung eintreten, oder nur ganz wenig Quecksilberlösung und Natriumcarbonat hinzuzumischen sein, um sie hervorzurufen.

Die Quecksilberlösung soll nun so weit verdünnt werden, dass

20 CC. derselben erforderlich sind, um in 10 CC. jener Harnstofflösung gerade die erste deutliche Gelbfärbung hervorzurufen. Hat man nun z. B. 16 CC. der Quecksilberlösung für 10 CC. der Harnstofflösung verbraucht, um die gelbe Endreaction zu erhalten, so würden zu je 16 CC. derselben 4 CC. Wasser hinzuzufügen sein, um eine Lösung von gewünschtem Titer zu erhalten, aber es ist zweckmässig, nicht gleich die ganze nach dieser Berechnung erforderliche Quantität Wasser zuzusetzen und die etwas zu concentrirte Lösung nochmals in obiger Weise mit 10 CC. Harnstofflösung zu prüfen, auch jetzt etwas weniger Wasser als die Berechnung erfordert, hinzuzufügen, abermals mit 10 CC. Harnstofflösung zu prüfen u. s. w., bis man zur richtigen Verdünnung der Quecksilberlösung gekommen ist, so dass gerade 20 CC. derselben den Harnstoff in 10 CC. der Harnstofflösung fällen und die erste deutliche Gelbfärbung in der Sodalösung erscheinen lassen. Nähert man sich nicht sehr vorsichtig dem richtigen Verdünnungsgrade der Quecksilberlösung, so erhält man gewöhnlich gleich eine zu verdünnte Lösung.

Da nun 10 CC. der Harnstofflösung 0,2 gr Harnstoff enthalten, so entspricht also 1 CC. von der Quecksilberlösung, wenn 20 CC. derselben zur Hervorrufung der Endreaction erforderlich sind, 10 Milligr. Harnstoff.

Zur Darstellung dieser Titrirflüssigkeit empfiehlt Dragendorff[1]) 96,855 gr reines Quecksilberchlorid mit überschüssiger verdünnter Kali- oder Natronlauge zu fällen, den zuerst durch Decantiren, dann auf dem Filter völlig ausgewaschenen Niederschlag in der nöthigen Quantität verdünnter Salpetersäure zu lösen und etwa auf ein Liter zu verdünnen. Man titrirt diese Flüssigkeit, die grosse Haltbarkeit haben soll, mit einer 2procentigen Harnstofflösung und verfährt im Uebrigen wie es oben angegeben ist.

Pflüger[2]) empfiehlt die Auflösung von reinem Quecksilber in Salpetersäure, Verdünnung auf bestimmtes spec. Gewicht und Titrirung mit Harnstofflösung oder Abwägung des reinen Quecksilbers in besondere Messröhrchen, welche 71,5 gr Quecksilber bei 15°, gerade die richtige Quantität für 1 Liter Lösung fassen. Salkowski[3]) zieht die Abwägung von 77,2 gr reinen trocknen Quecksilberoxyds, Lösung in Salpetersäure, Abdampfen und Verdünnen zu 1 Liter vor.

Ausführung der Titrirung des Harnstoffs.

231. Hat man sich bereits überzeugt, dass der Harn kein Eiweiss enthält, so füllt man ein Probirgläschen zwei Mal mit dem Harne,

---

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 2 S. 86.

[2]) Arch. f. d ges. Physiol. Bd. 21 S. 248.

[3]) Salkowski u. Leube, Die Lehre vom Harne. 1882 S. 39.

giesst in ein Becherglas aus, füllt dasselbe Probirgläschen dann noch einmal mit der im vorigen Paragraphen beschriebenen Barytmischung, giesst dieselbe zu dem abgemessenen Harnvolumen, schüttelt um, filtrirt und prüft durch Zusatz eines Tropfens Barytmischung zu dem Filtrate, ob dasselbe völlig frei von Phosphorsäure ist, also keinen Niederschlag mit der Barytmischung giebt. Entsteht noch ein Niederschlag, so mischt man am Besten eine neue Portion des Harns mit dem gleichen Volumen Barytmischung, filtrirt und prüft das Filtrat mit einem Tropfen der Barytmischung. Phosphorsäurereiche Harne, z. B. Hundeharn, müssen oft mit dem doppelten Volumen Barytmischung versetzt werden, um völlig von Phosphorsäure befreit zu werden.

Ist das Filtrat frei von Phosphorsäure, so misst man davon eine Quantität ab, welche 10 CC. Harn enthält. Waren also 2 Volumen Harn mit 1 Volumen Barytmischung versetzt, so misst man vom Filtrat 15 CC. ab; war der Harn mit dem gleichen Volumen Barytmischung versetzt, so benutzt man 20 CC. des Filtrats zur Titrirung u. s. w.

Ist der zu titrirende Harn eiweisshaltig, so erfordert er folgende Vorbereitung: In einer hinreichend geräumigen Schale erhitzt man 100 CC. des Harns zum Kochen und fügt vorsichtig verdünnte Essigsäure tropfenweise hinzu, bis eine gute flockige Ausfällung des Eiweisses und Klarheit der Flüssigkeit über dem Niederschlage erreicht ist. Man erkennt, wenn man die Flamme wegrückt, leicht, ob die Gerinnung des Eiweisses eine vollkommene ist. Man filtrirt nun in einen Messcylinder, lässt völlig ablaufen vom Filter, wäscht Schale und Filter mit kleinen Portionen Wasser so lange nach, bis das Filtrat gerade 100 CC. beträgt, und verfährt mit der so erhaltenen Flüssigkeit, wie es oben für eiweissfreie Harne angegeben ist, indem man wohl darauf achtet, dass durch die Barytmischung die Reaction des Gemisches alkalisch wird, ist dies nicht der Fall, so fehlt es an Barytmischung.

Die eiweiss- und phosphorsäurefreie Mischung von Harn und Barytlösung titrirt man nun mit der salpetersauren Quecksilberlösung in derselben Weise, wie es bezüglich der Anfertigung der Quecksilberlösung im vorigen Paragraphen beschrieben ist. Man lässt zu der abgemessenen Portion des mit Barytmischung verdünnten Harns die titrirte salpetersaure Quecksilberoxydlösung cubikcentimeterweise zufliessen, so lange man eine weitere Vermehrung des Niederschlags beobachtet (es ist sehr selten der Fall, dass man weniger als 4 bis 5 CC. Quecksilberlösung für 10 CC. Harn verbraucht, um die gelbe Endreaction mit Soda zu erhalten, man kann daher diese Quantität sofort zusetzen ohne weitere Prüfung, wenn der Harn nicht augenscheinlich sehr verdünnt ist).

Kann man eine weitere Vermehrung des Niederschlags nicht mehr unterscheiden, so bringt man eine kleine abgemessene Portion der Normalsodalösung in ein Uhrglas, setzt dies auf schwarze Unterlage und prüft einen Tropfen, den man aus dem mit Quecksilberlösung versetzten Harn mit dem Glasstabe herausnimmt und in die Sodalösung einfliessen lässt, ob er darin einen weissen oder gelben Niederschlag erzeugt, wartet einige Secunden, da die gelbe Farbe nicht sofort erscheint, fügt dann von Neuem $^1/_2$ bis 1 CC. Quecksilberlösung zu der Harnbarytmischung, rührt mit dem Glasstabe um und prüft einen Tropfen in der Sodalösung u. s. w. Kann man in der Sodalösung die weiteren Proben nicht mehr deutlich von den früheren unterscheiden, so schüttet man die Sodalösung mit den eingebrachten Proben in die zu titrirende Harnbarytmischung zurück, giesst 1—2 CC. Sodalösung von Neuem in das Uhrglas und prüft nach weiterem Zusatz von Quecksilberlösung in der angegebenen Weise. Nimmt endlich der in die Sodalösung einfliessende Tropfen der Mischung nach einigen Secunden eine gelbliche Färbung an, so stumpft man vorsichtig unter gutem Umrühren mit gemessener Quantität Sodalösung die freie Säure in der untersuchten Flüssigkeit so weit ab, dass die Reaction sehr schwach sauer bleibt und prüft nun abermals einen Tropfen davon in einigen Tropfen Sodalösung; tritt jetzt keine Gelbfärbung ein, so ist noch ein geringer weiterer Zusatz der Quecksilberlösung erforderlich, um diese Gelbfärbung der Probe erscheinen zu lassen. Hat man dies erreicht, so liest man die Anzahl der verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung, ausserdem die im Ganzen zur Neutralisation angewendete Quantität Normalsodalösung ab und wiederholt die ganze Titrirung, indem man nun zu 15 CC. Harnbarytmischung gleich auf ein Mal so viel Quecksilberlösung und unter gutem Umrühren auch so viel Sodalösung zufliessen lässt, als nach der ersten vorläufigen Titrirung sich als nöthig erwiesen hat. Prüft man dann einen Tropfen der Mischung in Sodalösung, so wird die gelbe Endreaction nicht eintreten, es werden eine oder mehrere kleine gemessene Portionen von Quecksilberlösung und entsprechend Sodalösung zur Mischung hinzugefügt werden müssen, um die Endreaction herbeizuführen. Die jetzt gefundenen Correctionen der Quecksilberlösung und Sodalösung können nun durch eine dritte Titrirung geprüft werden, ob nach ihrer sofort vollständigen Zumischung zu der abgemessenen Menge Harnbarytmischung ein Tropfen der Mischung gleich die Endreaction giebt. Ist dies nicht der Fall, so wird eine Correction durch weiteren Zusatz von Quecksilberlösung und Sodalösung erfolgen müssen. Je häufiger diese Titrirung wiederholt wird und je schneller die Zumischung der ganzen Quecksilbernitratmenge und der

erforderlichen Sodalösung zur Harnstofflösung geschieht, um so genauer wird das Resultat der Titrirung.

232. Eine Complication für die Titrirung ergiebt sich dadurch, dass die Endreaction zu früh eintritt, wenn die Flüssigkeit, welche untersucht wird, mehr als 2 pCt. Harnstoff enthält, dass sie dagegen zu lange ausbleibt, wenn diese Flüssigkeit weniger als 2 pCt. Harnstoff enthält. Ist sie zu concentrirt, so kann man sie durch Wasserzusatz zu einer 2 pCt. Harnstoff enthaltenden während des Titrirens umwandeln, enthält sie aber weniger, so kann nur in der Berechnung nach empirisch gewonnenem Resultate eine Correction versucht werden.

Enthält die Flüssigkeit mehr als 2 pCt. Harnstoff, so wird man von der Quecksilberlösung doppelt so viel Cubikcentimeter verbrauchen, als das Volumen der Harnbarytmischung beträgt, ohne dass die Endreaction eintritt. Ist man bei der Titrirung so weit gekommen, so fügt man von da ab auf je 2 CC. Quecksilberlösung, die man mehr verbraucht als das Doppelte der zur Titrirung abgemessenen Harnbarytmischung, 1 CC. destillirtes Wasser zu und erhält so schliesslich immer eine 2 pCt. Harnstoff enthaltende Lösung mit der doppelten Quantität Quecksilberlösung gemischt. Waren z. B. 15 CC. Harnbarytmischung, enthaltend 10 CC. Harn, zur Titrirung abgemessen und nach Zusatz von 30 CC. Quecksilberlösung noch keine Endreaction eingetreten, so fügt man 1 CC. Wasser hinzu und fährt in dieser Weise mit dem Wasserzusatz fort, wie es oben angegeben ist. Tritt nun z. B. nach Zusatz von 42 CC. Quecksilberlösung die Endreaction ein, so sind allmälig auf die 12 CC. Quecksilberlösung, welche mehr als 30 verbraucht wurden, 6 CC. Wasser hinzugefügt und diese addirt zu 15 CC. geben 21 CC., also die Hälfte der zur Titrirung verbrauchten Quecksilberoxydlösung. Das Volumen der zur Neutralisation verwendeten Natriumcarbonatlösung ist bei dieser Berechnung an Stelle von zuzusetzendem Wasser in Rechnung zu stellen.

Tritt die Endreaction schon ein, ehe doppelt so viel Cubikcentimeter Quecksilberlösung verbraucht sind, so wird der durch zu späten Eintritt der Endreaction entstehende Fehler nach Liebig möglichst corrigirt, wenn man auf je 5 CC. Quecksilberlösung, welche man weniger verbraucht hat zur Hervorrufung der gelben Endreaction als das Doppelte des zur Titrirung abgemessenen Harnbarytmischungsvolumen, je $^1/_{10}$ CC. von der Anzahl Cubikcentimeter der verbrauchten Quecksilberlösung abzieht, ehe man die weitere Berechnung macht. Waren z. B. 15 CC. Harnbarytmischung zur Titrirung abgemessen und die Endreaction schon nach Verbrauch von 10 CC. Quecksilberlösung eingetreten, so sind auf die 4 Mal 5 CC., welche weniger als 30 CC.

verbraucht sind, 0,4 CC. von jenen 10 CC. abzuziehen, ehe die weitere Berechnung zu machen ist. Wenn die Quecksilberlösung bei diesem Gehalte an Harnstoff eben so richtig anzeigte, als in einer 2 procentigen Harnstofflösung, so wäre die gelbe Endreaction schon nach Zusatz von 10 — 0,4 CC. oder 9,6 CC. erfolgt.

Eine andere Correction als diese von Liebig ist von Pflüger angegeben und gleich für die Berechnung eines richtigen Werthes der titrirten Quecksilberlösung verwendet. Nach seiner Vorschrift zieht man die Anzahl der bis zur Endreaction verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung ab von der Summe der zur Titrirung verwendeten Cubikcentimeter Harnbarytmischung und der Cubikcentimeter Normalsodalösung, welche zur Neutralisation erforderlich waren, findet durch Multiplication dieser Differenz mit 0,08 die Anzahl Cubikcentimeter, welche von der verbrauchten Quecksilberlösung in Abzug zu bringen sind, ehe aus ihrem Volumen der Harnstoffgehalt der Flüssigkeit berechnet wird. Sind z. B. 16 CC. Quecksilberlösung verbraucht bis zur Endreaction für 15 CC. Harnbarytmischung unter Anwendung von 11,5 CC. Normalsodalösung, so ist nach Pflüger $([15 + 11,5] - 16) . 0,08 = 0,84$ CC. von der verbrauchten Quecksilberlösung 16 CC. in Abzug zu bringen, um den Einfluss der Verdünnung zu corrigiren und dann die Berechnung des Harnstoffgehaltes aus dem corrigirten Volumen der Quecksilberlösung = 15,16 CC. zu berechnen.

Eine weitere Correction erfordert das erlangte Resultat der Titrirung wegen des Gehaltes des Harns an Kochsalz. Nach Liebig's Erfahrungen wird der Fehler, welchen die Bildung von Quecksilberchlorid (vergl. vorigen Paragraphen) veranlasst, mit hinreichender Genauigkeit corrigirt, wenn man für 10 CC. Harn, welche der Titrirung unterworfen wurden, 1,5—2,5 CC. von der verbrauchten Anzahl Cubikcentimeter Quecksilberlösung abzieht, als den durchschnittlichen Verbrauch dieser Flüssigkeit durch das Chlornatrium zur Quecksilberchloridbildung.

Hat man nun eine Quantität Harnbarytmischung, welche 10 CC. Harn entspricht, titrirt und die beiden angegebenen Correctionen ausgeführt, so giebt der Rest der verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung multiplicirt mit 10 in Milligrammen den Gehalt dieser Quantität Harn an Harnstoff, oder der Rest der verbrauchten Cubikcentimeter Quecksilberlösung dividirt durch 10, giebt in Grammen den Procentgehalt des Harns an Harnstoff. Wenn z. B. 15 CC. Harnbarytmischung enthaltend 10 CC. Harn titrirt und 12,4 CC. Quecksilberlösung verbraucht wurden, ehe die gelbe Endreaction eintrat, so sind 0,4 CC. davon abzuziehen wegen geringeren Harnstoffgehaltes und etwa

1,5 CC. wegen des Kochsalzes. Es bleiben also 10,5 CC. übrig und der Harn enthält also in 100 CC. 1,05 gr Harnstoff.

Eine einmal begonnene Bestimmung des Harnstoffs im Harne durch diese Titrirung ist ohne Unterbrechung zu Ende zu führen, da sonst andere Verbindungen von salpetersaurem Harnstoff und Quecksilberoxyd entstehen, welche bewirken, dass die Endreaktion zu früh erscheint.

Es ist ferner darauf zu achten, dass zersetzte Harne bei der Titrirung ein zu hohes Resultat ergeben wegen des Verbrauchs von Quecksilberlösung durch das Ammoniak, welches aus Harnstoff gebildet ist.

Man hat endlich sorgfältig darauf zu achten, dass die messingenen Quetschhähne an den Büretten nicht mit der Quecksilberlösung benetzt werden, da sie sich schnell amalgamiren und durchbrechen.

Ist der zu titrirende Harn jodhaltig, so entsteht bei der Titrirung des Harnstoffs zunächst ein gelber quecksilberjodidhaltiger Niederschlag und die Endreaction erscheint zu früh. Alle jodidhaltigen Harne sind daher nach der im folgenden Paragraphen zu beschreibenden Methode auf Harnstoffgehalt zu titriren.*)

Enthält der Harn Sarkosin, Methylhydantoin, Salicylsäure, Benzoësäure, Hippursäure, Ammoniak in wesentlichen Quantitäten, so ist er für die Liebig'sche Harnstofftitrirung nicht geeignet, weil ausser Harnstoff noch andere Stoffe gefällt werden; Bensoësäure und Hippursäure können jedoch durch salpetersaures Eisenoxyd ausgefällt und entfernt werden.

Harnstoffbestimmung durch Titrirung nach Ausfällung des Chlors.

233. Die Ungenauigkeit, welche der Chlorgehalt des Harns für die Harnstofftitrirung herbeiführt, kann ohne wesentliche Umstände dadurch vermieden werden, dass man den Chlorgehalt titrirt. Man verfährt dazu zweckmässig in folgender Weise:

10 CC. des zu untersuchenden Harns werden abgemessen, etwas chromsaures Kali hinzugefügt und nach den § 208 gegebenen Vorschriften der Chlorgehalt bestimmt. Dann mischt man 2 Volumina Harn und 1 Volumen Barytmischung, filtrirt, prüft, ob alle Phosphorsäure entfernt ist, misst 15 CC. vom Filtrate ab und lässt dazu so viel Silberlösung fliessen, als zur Ausfällung des Chlors nach jener Titrirung sich als nöthig erwiesen hatte, und titrirt nun nach dem vorigen Paragraphen den Harnstoff mit Quecksilberlösung, ohne vorher das Chlorsilber abzufiltriren. Die Correction für den Chlorgehalt des Harns wird bei dieser Methode vermieden, aber die andere Correction wird dabei desto wichtiger.

Wenn z. B. 10 CC. Harn 14 CC. Silberlösung zur Ausfällung des Chlors und 16 CC. Quecksilberlösung für den Harnstoff brauchten, so sind 15 CC. der Harnbarytmischung mit 14 CC. Silberlösung vor der Harnstofftitrirung versetzt. Hätte nun diese Flüssigkeit 2 pCt. Harnstoff ent-

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 6 S. 214.

halten, so würden wenigstens 58 CC. Quecksilberlösung zur Hervorbringung der Endreaction nöthig sein, ist diese aber schon nach Zusatz von 16 CC. Quecksilberlösung und 11,5 CC. Normalsodalösung eingetreten, so sind also 36 CC. Quecksilberlösung weniger verbraucht, als von einer 2procentigen Harnstofflösung. Nach Pflüger's Berechnung der Correction werden ([15 + 14 + 11,5] — 16) . 0,08 CC. = 1,96 CC. von den 16 CC. Quecksilberlösung als Correction in Abzug zu bringen sein, und der Harn nur 1,404 pCt. Harnstoff enthalten.

Jodhaltige Harne werden bei dieser Titrirung mit Silberlösung jodfrei erhalten und es wird also die Harnstoffbestimmung in ihnen nach der Ausfällung durch Silber eben so genau als in jodfreiem Harn.

Bestimmung des Harnstoffs durch Wägung nach Bunsen.

234. Es werden 30—40 gr von dem zu untersuchenden Harn in einem Kolben abgewogen, 8—10 gr gesättigter mit etwas Aetzammoniak vermischter Chlorbariumlösung hinzugefügt, wieder gewogen, dann durch ein trockenes gewogenes Filter, nachdem sich der Niederschlag gut ausgebildet hat, filtrirt in ein starkes unten zugeschmolzenes Glasrohr von schwer schmelzbarem Kaliglas, welches vorher gewogen ist und in welches ungefähr 3 gr reines krystallisirtes Chlorbarium eingebracht waren. Man lässt durch einen lang ausgezogenen Trichter 25—30 gr von dem Filtrat in dies Glasrohr fliessen, wägt dasselbe abermals und schmilzt es dann mindestens 1 Decimeter über dem Flüssigkeitsniveau mit der Gasgebläselampe zu. Nachdem die Flüssigkeit vom Filter vollkommen abgelaufen ist, wird der Niederschlag auf dem Filter mit kohlensäurefreiem Wasser gesammelt, ausgewaschen, getrocknet und mit dem Filter gewogen.

Das zugeschmolzene Glasrohr, welches die ammoniakalische Chlorbariumlösung gemischt mit dem Harn enthält, wird nun im Oelbade 3 bis 4 Stunden auf 200° erhitzt. Nach dem Erkalten wird mit der Feile und mit Sprengkohle das Glasrohr vorsichtig geöffnet, der Niederschlag von kohlensaurem Baryt auf ein kleines gewogenes Filter gebracht und mit kohlensäurefreiem Wasser schnell ausgewaschen, dann mit dem Filter getrocknet und gewogen. Ist dann U das gesuchte Gewicht Harnstoff in 100 gr Harn, A die untersuchte Harnquantität, B das Gewicht der zugefügten Chlorbariumlösung, b das des abfiltrirten Niederschlags, C das Gewicht der in das Glasrohr eingeschmolzenen Harnbarytmischung und K das Gewicht des erhaltenen kohlensauren Baryt, so ist

$$U = \frac{30,457 \,.\, K\,(A + B - b)}{A\,C}$$

da aus 0,30457 gr Harnstoff 1 gr kohlensaures Baryt erhalten wird.

Albuminstoffe, sowie viele Kohlehydrate, z. B. Glucose, entwickeln im zugeschmolzenen Glasrohr mit Wasser auf 200° erhitzt reichlich Kohlensäure (Hoppe-Seyler).

Pflüger, Bohland und Bleibtreu*) empfehlen den Harn zunächst zur Entfernung der Extraktivstoffe mit Phosphorwolframsäure und Salzsäure auszufällen, im Filtrat die Bestimmung nach Bunsen und eine Ammoniakbestimmung nach Schlösing auszuführen und letzteren Werth von dem nach Bunsen gefundenen abzuziehen.

Harnstoffbestimmung im Harne nach Huefner.

235. Zur Ausführung der Methode von Huefner zur Bestimmung des Harnstoffs bereitet man sich frische concentrirte Lösung von unterbromigsaurem Natron, indem man nach der Vorschrift von Knop 100 gr Natronhydrat in 250 CC. Wasser auflöst, völlig erkalten lässt und dann 25 CC. Brom dieser Lauge zumischt. Von dieser Lösung reichen 50 CC. hin, um aus Salmiaklösung 130—150 CC. Stickgas zu entwickeln.

Fig. 4 (s. folg. Seite) erläutert den zur Bestimmung von Harnstoff dienenden Apparat. Das ungefähr 100 CC. fassende bauchige Gefäss *B* ist durch einen weiten Hahn abzuschliessen von dem unteren kolbenförmigen Ansatzstück *A*. Man füllt zunächst mittelst eines langen Trichterrohrs, während der ganze Apparat leer ist, das Gefässchen *A* mit dem zu untersuchenden Harn, der vorher, wenn er nicht an sich schon sehr verdünnt ist, mit gemessener Wassermenge passend verdünnt sein muss, man füllt damit auch die Hahnbohrung vollkommen an (das Gefässchen *A* + Hahnbohrungsinhalt ist ein für alle Mal zu calibriren), schliesst dann den Hahn und reinigt jetzt sorgfältig das Gefäss *B* von dem Reste des Harns. Jetzt füllt man das ganze Gefäss *B* und ebenso das Gefäss C grösstentheils mit der unterbromigsauren Natronlauge, stülpt das gleichfalls mit dieser Bromlauge gefüllte graduirte und calibrirte Glasrohr *D* über die Oeffnung des Gefässes *B* und beginnt nun die Bestimmung, indem man durch Oeffnung des Hahns die Lauge zu dem Harn in *A* eintreten lässt. Die Bohrung des Hahns soll eine recht weite sein, damit die Lauge recht plötzlich sich mit dem Harn mengt. Es zeigt sich alsbald stürmische Gasentwickelung, die sich bald verlangsamt, aber schwächer einige Zeit fortdauert. Ist die Gasentwickelung zu Ende, nach 20—30 Minuten, so zieht man das Rohr *D* etwas in die Höhe und bringt es mit Hülfe eines Glaslöffels in destillirtes Wasser in einem Cylinderglas, stellt es senkrecht so auf, dass das innere Niveau mit dem äusseren zusammenfällt, liest nach halbstündigem Stehen bei

*) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 38 S. 575, Bd. 43 S. 30 u. Bd. 44 S. 10.

gleichmässiger Temperatur das Volumen des gesammelten Gases ab, bestimmt ferner die Temperatur der Luft über dem Wasser, notirt den Barometerstand und berechnet nun den Harnstoffgehalt des Harns nach folgenden Daten: 1 gr Harnstoff liefert nach seiner Formel 372 CC. Stickstoff von 0° und 760 Mm. Druck, aber nach Huefner's Untersuchungen[1]) entwickelt die obige Brom-Natronlauge aus 1 gr Harnstoff nur 354,33 CC. N_2 von 0° und 760 Mm. Druck.

Ist nun p das Gewicht des Harnstoffs für 100 CC. Harn, ist ferner a die für die Bestimmung verwendete Quantität Harn, b der beobachtete Barometerstand, t die Temperatur bei der Ablesung des Volumen v des entwickelten Stickstoffs in Cubikcentimetern und b' die Tension des Wasserdampfes für diese Temperatur, so ist

$$p = \frac{100\, v\, (b - b')}{760 \,.\, 354{,}33 \,.\, a\, (1 + 0{,}003665 \,.\, t)}$$

Es sind in neuerer Zeit viele Versuche gemacht, diese Harnstoffbestimmung mit unterbromigsaurem Natron genauer und bequemer zu machen.[2])

Je concentrirter die Bromlauge und je höher die Temperatur, desto schneller und vollständiger vollzieht sich die Zerlegung des Harnstoffs unter Stickstoffentwickelung, desto grösser ist aber zugleich die Gefahr, dass neben Stickstoff auch Sauerstoff entwickelt wird. Harnsäure, Kreatinin, Ammoniak und mehrere andere Stoffe werden durch die Bromlauge unter allmäliger Entwickelung von Stickstoff zersetzt. Gute Resultate soll man erhalten, wenn man nach dem Vorschlage von Pflüger u. Bohland zunächst aus dem Harn mittelst Phosphorwolframsäure und Salzsäure die



Fig. 4.

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 2 S. 350.

2) Plehn, Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. 1875 S. 582 u. Diss. Berlin, 3. Mai 1875. Yvon, Jahresber. f. Thierchemie. Jahrg. 3 S. 51. Russel u. West, ebendas. Jahrg. 4 S. 216. Apjohn, Chem. News, January 22. 1875. Dupré,

Extractivstoffe entfernt und das Filtrat für die Huefner'sche Methode verwendet. Das Nähere siehe Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 39 S. 143.

Bestimmung des Harnstoffs nach Pflüger und Bleibtreu[1].

236. Ein Volumen Harn wird mit 2 Volumina angesäuerter Phosphorwolframsäure (100 CC. Salzsäure von 1,124 spec. Gew. + 900 CC. Phosphorwolframsäure (1 : 10)) zusammengebracht. Nach 5 Minuten filtrirt man eine kleine Probe. Ensteht in 1 CC. des klaren Filtrats auf Zusatz von 3 Tropfen Phosphorwolframsäure nach 2 Minuten eine Trübung, so ist ein Vol. Harn mit 3 Vol. Phosphorwolframsäure auszufällen. Nach 24 Stunden filtrirt man ab, verreibt das Filtrat mit Kalkpulver bis zur alkalischen Reaction, lässt bedeckt stehen bis die blaue Farbe verschwunden ist und filtrirt wieder. Von dem Filtrat benutzt man 15 CC. (resp. wenn 3 Vol. Phosphorwolframsäure nöthig waren, 20 CC.) zur Ammoniakbestimmung nach Schlösing; 15 resp. 20 weitere CC. werden in einem geräumigen Destillationskolben von $2^1/_2$ Liter Inhalt, in den man kurz vorher ungefähr 10 gr krystallisirte Phosphorsäure gebracht hat, 3 Stunden auf 230—260° erhitzt. Nach dem Erkalten verdünnt man mit Wasser, macht mit Natronlauge alkalisch, destillirt, fängt das Destillat in Normalschwefelsäure auf und bestimmt die Menge des gebildeten Ammoniak in derselben Weise, wie bei der Kjeldahl'schen Methode (§ 228). Zieht man von der erhaltenen Ammoniakmenge die Quantität des nach Schlösing gefundenen Ammoniak ab, so erhält man als Ammoniak ausgedrückt die in 5 CC. Harn enthaltene Quantität Harnstoff.

Bestimmung des Harnstoffs nach Mörner und Sjöqvist[2].

237. 5 CC. des Harns werden in einem Kolben mit 5 CC. einer 5 pCt. Barythydrat enthaltenden gesättigten Chlorbariumlösung gemischt, dann mit 100 CC. eines Gemisches von 2 Thl. Weingeist (97 pCt.) und 1 Thl. Aether versetzt und bis zum folgenden Tage in verschlossenem Gefäss stehen gelassen. Jetzt filtrirt man ab, wäscht mit Alkohol-Aether nach und dampft das Filtrat bei einer Temperatur von etwa 55° (nicht über 60°) ein, zuletzt unter Zufügung von etwas Wasser und Magnesia usta,

---

Journ. of the chem. Soc. 1877 I. p. 534. Maxwell Simpson und Okeefe, ebendas. 1877 I. p. 538. Depaire, Presse méd. belge 1877 No. 7. Méhu, Compt. rend. T. 89 p. 417, 486, 547. Barbier, Journ. pharm. chim. T. 30 p. 274. Fauconnier, Jay, Méhu, St. Martin, Bull. de la soc. chim. Paris (2) p. 33, 102, 105, 410 etc. Falck, Arch. d. ges. Physiol. Bd. 26 S. 391.

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 44 S. 78.

[2]) Skandinav. Arch. f. Physiol. Bd. 2 S. 438; vergl. auch Bödtker, Zeitschr. physiol. Chem. Bd. 17 S. 140.

bis die Dämpfe keine alkalische Reaction mehr zeigen. Die bis auf 15—10 CC. eingeengte Flüssigkeit wird unter Nachspülen mit Wasser in einen Kolben übergeführt, mit einigen Tropfen concentrirter Schwefelsäure versetzt und auf dem Wasserbad eingeengt. Die eingedampfte Masse versetzt man mit 20 CC. concentrirter Schwefelsäure und bestimmt den Stickstoff nach Kjeldahl (§ 228). Man erfährt auf diese Weise, wie viel Harnstoff, als Ammoniak ausgedrückt, in 5 CC. Harn enthalten ist.

Nachweis und Bestimmung der Harnsäure im Harne.

238. Zum Nachweis der im Harn gelösten Harnsäure genügt das im § 89 Angegebene; nur sehr verdünnte Harne erfordern vor dem Zusatze der Salzsäure oder Essigsäure ein Abdampfen auf $^1/_4$—$^1/_{10}$ Volumen. Für die quantitative Bestimmung sind mehrere Methoden angegeben.

1) Die Methode von Heintz[1]).

Es werden 200 CC. Harn zur Bestimmung der Harnsäure verwendet, 48 Stunden nach Zusatz von 10 CC. Salzsäure stehen gelassen, der Niederschlag auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter von 3 CC. Halbmesser gesammelt, mit möglichst wenig Wasser ausgewaschen: die Menge des Waschwassers braucht 30 CC. nicht zu übersteigen. Filter und Niederschlag werden wieder bei 110° getrocknet und nach dem Erkalten über Schwefelsäure gewogen. Sollte durch irgend einen Umstand die Waschwassermenge wesentlich vergrössert sein (man darf das Auswaschen nicht eher einstellen, als bis einige Tropfen des Waschwassers eine saure Silbersalpeterlösung nicht mehr trüben), so wird der gefundenen Harnsäuremenge pro Cubikcentimeter Waschwasser über 30 CC. desselben 0,045 Milligrm. zuzurechnen sein.

Die Untersuchungen von Salkowski[2]) haben ergeben, dass alle Variationen der Harnsäurebestimmung durch Fällung mittelst ClH stets ein ungenaues und zwar zu niedriges Resultat ergeben, denn er konnte in einer grossen Zahl von Bestimmungen nach Fällung der Harnsäure in 200 CC. Harn noch 0,044—0,07 gr Harnsäure aus dem Filtrate erhalten, indem er dies mit Ammoniak stark übersättigte und mit ammoniakalischer Silberlösung fällte.

2) Methode von Fokker in der Modification von Salkowski vergl. Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 10 S. 153. Arch. f. path. Anatom. Bd. 68

---

[1]) Ann. Chem. Pharm. Bd. 130 S. 179.

[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 5 S. 210 u. Salkowski u. Leube, Die Lehre vom Harn. Berlin 1882 S. 96.

S. 401 umständlicher als die Methode von Heintz und weniger genau als die folgende.

3) Methode von Salkowski[1]) und Ludwig[2]).

Dieselbe beruht auf Ausfällung der Harnsäure als Silberdoppelsalz (harnsaures Silber-Magnesium) durch ammoniakalische Silberlösung und erfordert folgende Flüssigkeiten:

1) eine ammoniakalische Silberlösung hergestellt durch Auflösen von 26 gr Silbernitrat in überschüssigem Ammoniak und Auffüllen mit destillirtem Wasser zu 1 Liter,

2) eine Magnesiamischung hergestellt durch Auflösen von 100 gr krystallisirtem Chlormagnesium, Zusatz von reichlichem Ammoniumchlorid und soviel Ammoniak, dass die Flüssigkeit danach riecht und Auffüllen mit destillirtem Wasser zu 1 Liter.

Ausführung: Zu 200 CC. Harn fügt man unter Umrühren 20 CC. der Silberlösung und 20 CC. Magnesiamischung, welche man vorher in einem Becherglase gemischt und mit soviel Ammoniak versetzt hat, dass das ausfallende Chlorsilber sich wieder löst. Nach $^1/_2$ bis 1 Stunde filtrirt man den Niederschlag mittelst eines Saugfilters ab und wäscht ihn 2 oder 3 mal mit schwach ammoniakalischem Wasser aus, indem man gleichzeitig das Waschwasser benutzt, die im Becherglas noch befindlichen Reste des Niederschlags vollständig auf das Filter zu bringen. Jetzt spritzt man den Filterrückstand in einen Kolben (gelingt dies nicht vollständig, so kann man auch das ganze Filter in den Kolben bringen), fügt etwa 200 CC. Wasser hinzu, schüttelt anhaltend und leitet Schwefelwasserstoff in nicht zu schwachem Strome unter häufigem Umschütteln hindurch; man erhitzt dann bis zum beginnenden Sieden, setzt einige Tropfen Salzsäure hinzu bis zur deutlich sauren Reaction, filtrirt schnell durch ein Faltenfilter vom Schwefelsilber und eventuell Papierbrei ab und wäscht einige Male mit heissem Wasser nach. Man dampft das Filtrat sofort in der Porcellanschale bis auf wenige CC. schnell ein, fügt einige Tropfen Salzsäure hinzu, lässt einige Stunden stehen (Ludwig hält 1 Stunde für genügend; Salkowski giebt 24 Stunden an) und sammelt den ausgeschiedenen Niederschlag auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter, indem man das zuletzt ablaufende Filtrat zum vollständigen Aufbringen des Niederschlags auf das Filter benutzt. Erst wenn die Flüssigkeit vom Filter vollständig abgelaufen ist, wäscht man einige Male mit destillirtem Wasser, trocknet Filter und Niederschlag bei 100°, wäscht nach dem Abkühlen dreimal mit ein wenig Schwefel-

---

[1]) Salkowski u. Leube, Die Lehre vom Harn. 1882 S. 96.

[2]) E. Ludwig, Wien. medic. Jahrbücher 1884 S. 597.

kohlenstoff, verdrängt den Schwefelkohlenstoff sofort durch Aether und trocknet bei 110° bis zum constanten Gewicht. Für je 10 CC. Waschwasser addirt man zum Gewicht 0,00048 gr Harnsäure hinzu.

4) Methode von Haycraft[1]). Dieselbe beruht darauf, dass die bei der vorigen Methode beschriebene unlösliche Silbermagnesiumverbindung der Harnsäure nach Haycraft Silber und Harnsäure in einem constanten Verhältniss (1 Mol. Harnsäure (168) auf 1 Atom Silber (108)) enthält, dass man deshalb durch eine Bestimmung des Silbergehaltes im Niederschlage die Menge der Harnsäure erfahren kann. Sie wird unter Berücksichtigung einiger von Herrmann[2]) angegebenen Veränderungen in folgender Weise ausgeführt:

50 CC. Harn werden mit je 5 CC. der oben (Methode von Salkowski-Ludwig) beschriebenen Magnesiamischung und Silberlösung versetzt und, nachdem sich der Niederschlag etwas zu Boden gesetzt hat, mittelst einer Saugpumpe durch ein Glaswollfilter filtrirt, und zwar filtrirt man zunächst die klare Flüssigkeit, vertheilt dann etwa 4 gr Natriumbicarbonat in groben Stücken auf dem Filter und bringt nun den den Niederschlag enthaltenden Rest der Flüssigkeit auf dasselbe. Dann wird mit ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen, so lange bis sich das Filtrat auf Zusatz weder von Salzsäure noch von Silbernitrat und Salpetersäure trübt. Darauf löst man den Niederschlag auf dem Filter durch Uebergiessen mit reiner Salpetersäure, wäscht mit Wasser vollständig aus und bestimmt im Filtrat die Menge des Silbers durch Titriren mit Schwefelcyanammonium in der bei der Volhard'schen Chlortitrirung (§ 224) beschriebenen Weise. Ist die Schwefelcyanammoniumlösung so eingestellt, dass ein Volumen derselben gerade ein Volumen einer $^1/_{50}$ Normalsilberlösung (enthaltend 3,4 gr $AgNO_3$ im Liter) verbraucht, so entspricht 1 CC. derselben 3,36 Milligr. Harnsäure. Diese Methode giebt stets höhere Werthe als die Salkowski-Ludwig'sche; sie eignet sich nicht für harnsäurereiche Harne.

Eiweisshaltige Harne sind vor der Bestimmung in der beim Harnstoff angegebenen Weise von Eiweiss zu befreien. Bei der Methode von Haycraft stört die Anwesenheit von Eiweiss nicht[3]).

Sedimente oder Trübungen von harnsauren Salzen bringt man zunächst durch Erwärmen event. unter Zusatz von etwas Alkali in Lösung; ausgeschiedene freie Harnsäure filtrirt man ab und wägt sie für sich.

Bezüglich des Nachweises von oxalursaurem Ammoniak im Harne vergl. oben § 89.

---

[1]) Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 25 S. 165; Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15 S. 436.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 496.

[3]) Herrmann, a. a. O.

Ueber Nachweis und Darstellung von Nucleïnbasen, Hetero- und Paraxanthin im Harne vergl. § 87. Ueber Nachweis der beiden letztgenannten Basen und des Xanthin in kleinen Harnmengen vergl. Salomon, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 125 S. 554.

Nachweis und Bestimmung des Kreatinin im Harne.

239. Zum Nachweis des Kreatinin im Harn bedient man sich am Besten der Reactionen von Weyl oder Jaffé (vergl. oben § 98).

Für die quantitative Bestimmung hat Neubauer[1]) eine Methode empfohlen, welche von Salkowski[2]) modificirt ist und in dieser Modification folgendermassen lautet: 480 CC. eiweissfreien Harns werden durch vorsichtigen Zusatz von Kalkmilch schwach alkalisch gemacht, mit Chlorcalcium genau ausgefällt, auf 600 CC. aufgefüllt, gut gemischt, nach 15 Minuten durch ein trocknes Filter filtrirt, vom Filtrat, das schwach alkalisch reagiren muss — ist es zu stark alkalisch, so setzt man vorsichtig verdünnte Salzsäure hinzu, aber erst nach dem Abmessen — 500 CC. im Messkolben abgemessen, anfangs auf freiem Feuer, dann auf dem Wasserbad eingedampft bis auf etwa 40 CC., mit ungefähr dem gleichen Volumen von absoluten Alkohol durchgerührt, in einem etwas absoluten Alkohol enthaltenden Messkolben von 200 CC. gebracht, mit Alkohol nachgespült, auf 200 CC. damit aufgefüllt, tüchtig durchgeschüttelt und stehen gelassen. Während des Erkaltens muss man den Kolben öfters gelinde aufstossen, um die in dem Niederschlag enthaltene Luft herauszubringen. Nach völligem Erkalten ergänzt man das Volumen wieder auf 200 CC., lässt bis zum nächsten Tage stehen, filtrirt durch ein trocknes Filter, misst vom Filtrat 160 CC. zur Bestimmung ab, setzt 1—2 CC. einer alkoholischen, absolut säurefreien Lösung von Chlorzink (spec. Gew. 1,2) hinzu, rührt längere Zeit gut um, wodurch die Ausscheidung des Niederschlags sehr beschleunigt wird, und lässt dann 3 bis 4 Tage mit einer Glasplatte bedeckt im Keller stehen. Nach Ablauf dieser Zeit bringt man die abgeschiedenen Krystalle auf ein vorher getrocknetes und gewogenes Filter und benutzt zum Ausspülen immer wieder das erst erhaltene Filtrat. Ist dann alles Chlorzink-Kreatinin auf das Filter gebracht, so wäscht man, sobald die Mutterlauge völlig abgelaufen ist, so lange mit kleinen Mengen Weingeist aus, bis dieser farblos abläuft und nicht mehr auf Chlor reagirt. das Filter mit dem Kreatininchlorzink wird dann bei 100° getrocknet und gewogen.

---

1) Ann. Chem. Pharm. Bd. 119 S. 27.
2) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 119.

Für den Nachweis und die quantitative Bestimmung der Diamine (Cadaverin und Putrescin) dient die oben §§ 68 u. 69 beschriebene Methode von v. Udránszky und Baumann. Dieselbe liefert bei Verdünnungen, welche 1 : 10000 nicht überschreiten, eine nahezu quantitative Ausbeute.

Bestimmung der Oxalsäure im Harne.

240. Zum Nachweis oder zugleich zur Bestimmung der Oxalsäure im Harne versetzt man nach der Methode von Neubauer[1]) 400 bis 600 CC. Harn mit etwas Chlorcalcium, dann mit überschüssigem Ammoniak, filtrirt, behandelt den Niederschlag mit Essigsäure unter Vermeidung eines zu grossen Ueberschusses, filtrirt nach 24stündigem Stehen ab, wäscht den Rückstand mit Wasser und löst ihn dann auf dem Filter mit wenig Tropfen Salzsäure (ausgeschiedene Harnsäure bleibt zurück), filtrirt und wäscht mit wenig Wasser nach, übersättigt das Filtrat mit Ammoniak, lässt den Niederschlag sich absetzen, sammelt ihn nach 24 Stunden auf kleinem aschefreien Filter, trocknet und glüht im kleinen Platintiegel mit dem Gebläse oder im Hempel'schen Ofen heftig, lässt über Schwefelsäure erkalten und wägt. Das Gewicht des gefundenen Aetzkalks multiplicirt mit 1,6071 giebt die Quantität der Oxalsäure $C_2H_2O_4$ in der untersuchten Harnmenge.

In eigenthümlicher Modification ist dies Verfahren von Fürbringer[2]) geprüft und viel benutzt.

Ein kürzeres Verfahren hat Schultzen[3]) angegeben: Ausfällung der Phosphorsäure durch Chlorcalcium, Filtration, Abdampfen, Extraction des Rückstandes mit Alkohol und des vom Alkohol nicht Gelösten mit Essigsäure. Der zurückbleibende oxalsaure Kalk wird geglüht und der Kalkgehalt bestimmt; es kann aber hier schwefelsaurer Kalk erhebliche Fehler bewirken.

Nachweis und Bestimmung des Cystins im Harne bei Cystinurie.

241. Zum Nachweis dient das oben § 100 angegebene Verfahren von Goldmann, v. Udránszky und Baumann.

Zur annähernden quantitativen Bestimmung kann man

1) das in der a. a. O. beschriebenen Weise erhaltene Aetherextrakt benutzen.

---

[1]) Huppert, Neubauer u. Vogel, Analyse des Harns 9. Aufl. S. 126.

[2]) Fürbringer, Zur Oxalsäureausscheidung durch den Harn. Habilitationsschrift. Leipzig 1876.

[3]) Arch. f. Anat. u. Physiol. 1869 S. 719.

Dasselbe wird mit 12procentiger Natronlauge neutralisirt, die Lösung der Natriumsalze mit dem doppelten Volumen derselben Natronlauge versetzt und auf 0° abgekühlt. Nach zwei Stunden filtrirt man den aus glänzenden Blättchen bestehenden Niederschlag des in Natronlauge fast unlöslichen Natriumsalzes des Benzoylcystins ab, wäscht einmal mit wenig kalter Natronlauge, löst in 600 CC. Wasser und säuert stark mit Salzsäure an. Das in Form einer Gallerte abgeschiedene Benzoylcystin wird durch Schütteln und Zertrennen mit einem Glasstabe in der Flüssigkeit vertheilt, mit der Saugpumpe abfiltrirt, mit Wasser gewaschen, getrocknet und gewogen. Die Menge beträgt bei sorgfältiger Beobachtung der angegebenen Verhältnisse stets annähernd 40 pCt. der theoretischen Ausbeute an Benzoylcystin; demgemäss ist der wirkliche Gehalt zu berechnen.[1])

2) sich der indirekten Methode bedienen:[2])

Man bestimmt in einer Portion Harn den Gesammtschwefel (zu dem Zweck werden 25 CC. Harn mit 3 gr Salpeter und 3 gr Aetznatron im Silbertiegel geschmolzen), in einer andern den oxydirten Schwefel (Schwefelsäure) und erfährt auf diese Weise, wie viel Procent des Gesammtschwefels aus nicht oxydirtem (neutralem) Schwefel besteht; unter normalen Verhältnissen beträgt der nicht oxydirte Schwefel ungefähr 17,2 pCt. des Gesammtschwefels. Zieht man diesen Werth von dem gefundenen ab, so erhält man diejenige Menge Schwefel, welche dem Cystin entspricht.

Die erstere Methode lässt sich auch zur Bestimmung des Cystin im normalen Harn verwenden.

Bestimmung der Gesammtkohlehydrate im Harn nach v. Udránszky[3]).

242. Diese Bestimmung beruht auf der § 52 beschriebenen Furfurolreaction. Man stellt Traubenzuckerlösungen her von bekanntem Gehalt (0,1, 0,06, 0,05 u. s. w. bis 0,01 pCt.), versetzt je 1 Tropfen dieser Lösungen in der oben angegebenen Weise mit 1 Tropfen α-Naphtollösung, $^1/_2$ CC. Wasser und 1 CC. concentrirter Schwefelsäure und erhält so eine Farbenskala. Ferner bereitet man sich in derselben Weise Proben mit 1 Tropfen des mit gemessener Menge Wassers verdünnten eiweissfreien Harns, vergleicht die entstehende Farbe mit der Farbenskala und setzt das Verdünnen mit Wasser so lange fort, bis man eine Harnprobe hat, deren Mischfarbe genau oder möglichst genau der Mischfarbe einer der Zucker-

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15 S. 88.

2) Vergl. Mester, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 14 S. 109.

3) Vergl. Treupel, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 55.

lösungsproben entspricht. Man hat nun den Procentgehalt dieser Lösung mit der Zahl zu multipliciren, welche angiebt, auf das Wievielfache seines Volumens der Harn verdünnt war, um den Procentgehalt des untersuchten Harns an Kohlehydraten — bezogen auf eine Traubenzuckerlösung — zu finden.

Zum Nachweis resp. zur Darstellung des Aceton, der Acetessigsäure und der Oxybuttersäure aus dem Harn dienen die oben § 39, § 41 und § 42 angegebenen Reactionen und Verfahren. Bei Anwesenheit von Acetessigsäure darf man zur Prüfung auf Aceton nicht destilliren, sondern man muss den schwach alkalisch gemachten Harn mit reinem Aether ausschütteln, darauf den Aether mit Wasser schütteln und diese wässerige Flüssigkeit für die Reactionen auf Aceton benutzen.

Bestimmung des Gehaltes an Phenol, Kresol, Brenzcatechin im Harne.

243. Für die Bestimmung der Phenole (Phenol + Kresole), welche man in der § 107 angegebenen Weise erhält, siehe § 107 sowie Kossler u. Penny, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 17 S. 117.

Brenzcatechin wird nach den Angaben von § 108 in Substanz dargestellt, getrocknet und gewogen.

Nachweis und Bestimmung des Gehaltes von Indoxylschwefelsäure im Harne.

Das Verfahren zur Bestimmung der Indoxylschwefelsäure incl. etwa vorhandener Indoxylglucuronsäure beruht auf der Spaltung derselben und Ueberführung des Indoxyls in Indigo. Der ursprünglich von Jaffé[1]) als Oxydationsmittel empfohlene Chlorkalk hat den Nachtheil, dass die Menge, welche erforderlich ist, um sämmtliches Indoxyl in Indigo zu verwandeln, nur durch Ausprobiren gefunden werden kann. Setzt man zu wenig zu, ist die Bildung des Indigo unvollständig, nimmt man zu viel, so wird Indigo oxydirt. Es ist deswegen rathsam, an Stelle des Chlorkalk das neuerdings von Obermayer[2]) empfohlene Eisenchlorid zu verwenden, welches auch im Ueberschuss zugesetzt keine Oxydation des gebildeten Indigo bewirkt, und in folgender Weise zu verfahren: Der Harn wird mit Bleizuckerlösung (1 : 5) womöglich unter Vermeidung eines bedeutenden Ueberschusses ausgefällt. Das Filtrat versetzt man mit dem gleichen Volumen rauchender Salzsäure, welche in 500 Thl. 1—2 Thl. Eisenchlorid enthält, und schüttelt tüchtig 1 oder 2 Minuten durch. Das gebildete Indigo wird nun mit Chloroform aufgenommen. Dasselbe setzt sich rasch vollkommen klar und durchsichtig und absolut rein blau ab.

1) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 3 S. 448.
2) Wien. klin. Wochenschr. 1890 S. 176.

Will man eine quantitative Bestimmung vornehmen, so behandelt man so oft mit neuen Portionen Chloroform, bis dasselbe sich nicht mehr blau färbt, verdunstet die vereinigten Chloroformlösungen in einem gewogenen Becherglas, behandelt den Rückstand zur Entfernung von Benzoësäure und andern in Chloroform löslichen Substanzen mit einer Mischung von Wasser, Alkohol und Aether, trocknet bei 105—110° und wägt.

Salkowski[1]) empfiehlt den Gehalt der Chloroformlösung an Indigo kolorimetrisch vergleichend mit einer Indigolösung von bekanntem Gehalt zu bestimmen.

Kynurensäure wird nach Voit und Riederer[2]) im Hundeharn nach einer der Harnsäure entsprechenden Methode bestimmt. 100 CC. Harn werden mit 4 CC. concentrirter Salzsäure versetzt, der nach einigen Minuten beginnende Niederschlag wird nach 48 Stunden Stehen der Mischung auf gewogenem, bei 100° getrocknetem Filter gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen; Filter und Niederschlag bei 100° getrocknet und gewogen. Die Kynurensäure kann in diesem Niederschlage besonders mit Schwefel (Zersetzung der unterschwefligen Säure) verunreinigt sein und durch Behandeln der getrockneten Masse mit Schwefelkohlenstoff von demselben befreit werden. Am vollständigsten wird Kynurensäure bestimmt werden können durch Fällen des stark sauer gemachten Harns mit Phosphorwolframsäure[3]), Behandlung des Niederschlags mit überschüssiger Aetzbarytlösung, Abfiltriren der heissen Lösung, Verdunsten auf kleines Volumen, Fällung kalt durch Ansäuern mit Salzsäure, Stehenlassen zur Krystallisation, Filtriren durch gewogenes Filter, Trocknen, Wägen.

Nachweis und Bestimmung der Hippursäure und Benzoësäure im Harne.

244. Zum Nachweis der Hippursäure im Harne dienen in allen Fällen die Darstellungsmethoden, welche im § 121 beschrieben sind.

Auch zur Bestimmung der Hippursäure dient allein die Darstellung derselben aus abgemessener Quantität Harn, am Besten nach dem Verfahren von Bunge und Schmiedeberg[4]). Die nicht zu kleine Quantität Harn, vom menschlichen Harn mindestens 100 CC., wird mit Sodalösung alkalisch gemacht, filtrirt und das Filtrat zum dicken Syrup eingedampft, der Rückstand wiederholt mit kaltem Alkohol ausgezogen, vom filtrirten Auszug der Alkohol abdestillirt und der Rest durch Abdampfen verjagt, die rückständigen Massen mit Salzsäure versetzt und wiederholt (wenigstens 5 Mal) mit neuen Portionen Essigäther ausgeschüttelt, die klar abgegossene Lösung der Hippursäure in Essigäther wird mit Wasser gewaschen und dann bei mässiger Temperatur verdunstet. Der Rückstand wird mit frisch destillirtem Petroläther mehrmals ausgezogen, um Benzoësäure und andere Verunreinigungen zu

---

[1]) Arch. f. path. Anat. Bd. 68 S. 407.
[2]) Zeitschr. f. Biologie 1867 S. 315.
[3]) Hofmeister, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 67.
[4]) Arch. f. exper. Pathol. Bd. 6 S. 235.

entfernen, dann in wenig Wasser warm gelöst, mit etwas Thierkohle digerirt, filtrirt, bei höchstens 50—60° zur Krystallisation verdunstet, getrocknet und gewogen.

Diese Methode giebt gute Resultate[1]) und ist auch zur Bestimmung der Benzoësäure geeignet, wenn man den Rückstand des Petrolätherauszugs in Wasser warm löst, filtrirt, das Filtrat bei mässiger Temperatur verdunstet, den Rückstand trocknet und wägt. Jaarsveld und Stokvis[2]) verfahren gleichfalls nach obiger Methode, wandeln aber nachher die durch Petroläther gereinigte Hippursäure durch 1/4 bis 1/2 stündiges Kochen mit starker Natronlauge in Benzoësäure um, säuren dann mit Salzsäure an, schütteln mehrmals mit Petroläther, bestimmen die in demselben gelöste Benzoësäure und berechnen aus der getrockneten und gewogenen Benzoësäure die Hippursäure (Multiplication des erhaltenen Werthes mit 1,467).

Nach Völker[3]) werden zur Bestimmung der Hippursäure 200 bis 300 CC. Harn in Hofmeister'schen Schälchen auf 1/3 eingeengt, 4 gr Natriumphosphat zugesetzt, weiter zur Syrupsconsistenz eingedampft, gebrannter Gyps beigemischt und so lange erwärmt, bis sich die Masse zu Pulver zerdrücken lässt. Letzteres wird sammt der zerschlagenen Schale im Soxhlet'schen Extractionsapparat zuerst 4—6 Stunden mit Petroläther, dann nach Wechseln des Kolbens 6—10 Stunden mit trocknem Aether extrahirt. Der Aetherrückstand wird in Wasser gelöst, mit Kohle entfärbt, die Lösung auf 1—2 CC. bei 50—60° verdunstet und der Krystallisation überlassen. Die Krystalle sammelt man auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter, wäscht mit etwas Wasser und ein Paar Tropfen Aether, trocknet und wägt. Als Correctur kann für 1 je CC. Filtrat 0,0015 gr Hippursäure in Rechnung gesetzt werden.

Nachweis und Bestimmung der Homogentisinsäure im Harne.

245. In Betreff des Nachweises siehe das oben § 131 Gesagte. Zur quantitativen Bestimmung dient folgendes Verfahren von Baumann[4]):

10 CC. des Alkaptonharns werden in einem Kölbchen mit 10 CC. Ammoniak von 3 pCt. versetzt. Zu dieser Mischung lässt man unverzüglich einige CC. 1/10 Normalsilberlösung hinzufliessen, schüttelt einmal um und lässt 5 Minuten stehen. Alsdann werden der Mischung 5 Tropfen Chlorcalciumlösung (1 : 10) und 10 Tropfen Ammoniumcarbonat-

[1]) Schröder, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3 S. 323.
[2]) Arch. f. exper. Pathol. Bd. 10 S. 271.
[3]) Maly, Jahresber. d. Thierchem. 1887 S. 215.
[4]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 270.

lösung hinzugefügt. Nach dem Umschütteln wird filtrirt. Das bräunlich gefärbte, aber immer ganz klare Filtrat wird mit Silbernitrat geprüft; tritt dabei sofort wieder eine starke Abscheidung von Silber ein, so wird bei dem zweiten Versuch gleich eine grössere Menge (das doppelte bis dreifache) $^{1}/_{10}$ Normal-Silberlösung zu der Mischung von 10 CC. Harn und 10 CC. Ammoniak hinzugefügt. Kennt man schon annähernd die zur Oxydation erforderliche Menge der Silberlösung, so bedient man sich, um die Endreaction zu erkennen, nur noch der Prüfung mit Salzsäure. Die Endreaction ist erreicht, wenn das Filtrat vom Silberniederschlag beim Ansäuern mit verdünnter Salzsäure eine eben noch sichtbare Trübung von Chlorsilber liefert. Man findet diesen Punkt sehr scharf durch 4 bis 5 oder 6malige Wiederholung des Versuchs. Sind mehr als 8 CC. $^{1}/_{10}$ Normal-Silberlösung auf 10 CC. Harn und 10 CC. Ammoniak erforderlich, so sind bei der Wiederholung des Versuches 20 CC. (statt 10 CC.) Ammoniak zu verwenden. 1 gr wasserfreie Homogentisinsäure reducirt unter den angegebenen Bedingungen eine Quantität Silberlösung, welche 2,60—2,65 gr Silber enthält, d. h. 240—245 CC. der $^{1}/_{10}$ Normal-Silberlösung; darnach werden durch 1 CC. $^{1}/_{10}$ Normal-Silberlösung 0,004124 gr Homogentisinsäure angezeigt.

Nachweis und Bestimmung des Albumin im Harne.

246. Im Harne können Propeptone und Peptone vorkommen, ohne dass andere Eiweissstoffe darin zu finden sind, treten aber coagulirbare Eiweissstoffe im Urin auf, so scheinen stets mindestens zwei verschiedene neben einander vorhanden zu sein*), nämlich Serumalbumin und Serumglobulin. Der Nachweis der Peptone geschieht nach § 177 und die Unterscheidung der Eiweissstoffe von einander nach den Vorschriften, welche in § 261 im Allgemeinen für seröse Flüssigkeiten gegeben sind.

Die in § 159 beschriebenen Reactionen sind ohne Weiteres zur Untersuchung auf Albuminstoffe im Harne, der nöthigenfalls vorher filtrirt werden muss, anwendbar; auch die Unterscheidung der einzelnen Albuminstoffe von einander kann ohne andere Vorbereitungen direct nach den in den Paragraphen 161—177 gegebenen Reactionen ausgeführt werden.

Die einfachste und beste Probe auf Albuminstoffe im Harne bleibt immer die folgende: Eine Portion Harn wird im Probirglase zum Kochen erhitzt; entsteht Niederschlag oder Trübung, so können sie von Eiweiss oder phosphorsaurem Kalke (kohlensaurem Kalke bei Pflanzenfressern) herrühren; löst sich der Niederschlag nicht auf Zusatz von

*) Senator, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 60 1874 u. viele neuere Untersuchungen.

Salpetersäure oder entsteht ein Niederschlag erst nach Zusatz dieser Säure, so enthält der Harn Albumin. Es ist vielfach versucht, die Quantität des Albumin im Harne nach der Höhe des flockigen Niederschlags zu schätzen, der nach der Coagulation eines bestimmten Volumen des eiweisshaltigen Harns im Probirglase sich nach bestimmter Zeit abgesetzt hat; diese Schätzung ist aber eine so trügerische, dass sie kaum einen Anhaltspunkt gewähren kann.

Zur quantitativen Bestimmung des Albumin können, wenn es auf Genauigkeit ankommt, ausschliesslich die unten (§ 248) beschriebenen Methoden der Wägung der durch Coagulation abgeschiedenen Albuminstoffe angewendet werden.

Die von C. Méhu[1]) angegebene Methode der Fällung durch Salpetersäure, Phenol, Essigsäure und Alkohol, ebenso die Methode der Fällung mit dem halben Volumen 20 procent. Kochsalzlösung und Gerbsäure nach Girgensohn[2]) oder mit Alkohol nach Liborius[3]) sind weniger genau.

Die von Boedeker[4]) angegebene Titrirung beruht darauf, dass Albumin in essigsaurer Lösung durch Ferrocyankalium vollkommen gefällt wird. Diese Methode ist ziemlich umständlich und giebt Resultate, die oft sehr erheblich von denen abweichen, welche durch Wägung des durch Coagulation ausgefällten Albumin aus demselben Harne gewonnen werden. Von Tauret[5]) ist eine Titrirung mit Jodquecksilberjodkalium in saurer Lösung (3,32 gr Jodkalium, 1,35 gr Quecksilberchlorid, 20 CC. Essigsäure für 60 CC. Lösung) angegeben. A. Vogel[6]) hat ein seiner Methode zur Bestimmung des Fettgehaltes der Milch (siehe unten) nachgebildetes Verfahren auch zur Bestimmung des Albumingehaltes im Harne empfohlen. Man säuert den Harn sehr schwach mit Essigsäure an, verdünnt gemessene Portionen, 4 oder 6 CC. u. s. w. mit Wasser auf 100 CC., erhitzt zum Sieden, kühlt rasch ab, und untersucht, ob der Lichtkegel einer Stearinkerze durch eine 5,5 cm dicke Schicht der Mischung noch sichtbar ist. Man wiederholt den Versuch bei verschiedenen Verdünnungen, bis man die Concentration der Mischung gefunden hat, bei welcher das Flammenbild gerade verschwindet. Nach Dragendorf enthält dann die Flüssigkeit in 100 CC. 0,023553 gr Albumin; hieraus ist dann der Gehalt des Harns an

---

1) Arch. génér. de méd. 1869 Mars S. 257.
2) Arch. f. klin. Med. Bd. 11 S. 613.
3) Arch. f. klin. Med. Bd. 10 S. 319.
4) Ann. Chem. Pharm. Bd. 111 S. 195.
5) Jahresber. d. Thierchemie, Jahrg. 1877 S. 240.
6) Arch. f. klin. Med. Bd. 3 S. 143 u. Zeitschr. f. analyt. Chem. Bd. 7 S. 152.

Albumin leicht zu berechnen. Eine ähnliche Methode ist in neuerer Zeit von Christensen[1]) angegeben.

Die Versuche von Lang, Haebler, Bornhardt u. A.[2]), den Albumingehalt eines Harns aus dem Unterschiede der spec. Gewichte der Flüssigkeit vor und nach der Coagulation des Albumins durch Erhitzen und Säurezusatz zu bestimmen, haben genügende Resultate nicht ergeben.

Ein auf demselben Princip beruhendes Verfahren von Záhor[3]) liefert gute Resultate, ist aber umständlich, erfordert grosse Sorgfalt in der Ausführung und mehrmalige Wägungen.

Approximative Bestimmung des Eiweissgehaltes im Harne.

247. Zur annähernd quantitativen Bestimmung für klinische Zwecke empfiehlt sich ihrer bequemen Ausführbarkeit wegen die von Brandberg[4]) weiter ausgearbeitete Methode von Roberts-Stolnikow, deren Brauchbarkeit von Hammarsten[5]) erprobt ist, sowie die Methode von Esbach.[6])

Die Methode von Roberts-Stolnikow beruht auf der Beobachtung, dass die Heller'sche Eiweissprobe, d. h. das Auftreten einer ringförmigen Trübung an der Berührungsfläche zwischen Salpetersäure und eiweisshaltiger Flüssigkeit nach 2—3 Minuten schwach aber deutlich sichtbar wird, wenn die Lösung 0,0033 pCt. Eiweiss enthält.

Zur Ausführung verdünnt man den Harn mit 9 Volumen Wasser und bereitet sich von diesem Zehntelharn eine Reihe von Versuchsflüssigkeiten bekannter Verdünnung. Darauf giesst man in eine Anzahl Reagensgläser aus einer Pipette einige Cubikcentimeter concentrirter Salpetersäure mit der Vorsicht, dass die Wandungen oberhalb nicht benetzt werden, vertheilt in die einzelnen Gläser mit einer sehr fein ausgezogenen Pipette gleiche Volumina der verschieden verdünnten Harnlösungen, so dass beide Flüssigkeiten sich nicht mischen und notirt die Zeit, wann in jeder Probe ein eben sichtbarer bläulich weisser Ring auftritt. Diejenige Probe, in welcher das innerhalb 2—3 Minuten geschieht, enthält 0,0033 pCt. Eiweiss. Man erfährt den Eiweissgehalt des unverdünnten Harns durch folgende Gleichung: $p = \frac{K + X}{K \cdot 30}$, in der p die Pro-

[1]) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 115 S. 128.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1869 No. 34.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 484.
[4]) Jahresber. f. Thierchemie 1880 S. 265.
[5]) Ebendas. 1883 S. 217.
[6]) Gaz. méd. de Paris 1874 p. 61. Esbach, Dosage de l'albumine. Paris 1886.

cente Eiweiss im unverdünnten Harn, K die zu jeder Probe verwendete Menge Zehntelharn und X die zur Verdünnung verwendete Wassermenge sind.

Die Methode von Esbach. In ein für diesen Zweck besonders graduirtes Rohr wird bis zu einer bestimmten, mit U bezeichneten, Marke der sauer reagirende, nöthigenfalls mit Essigsäure angesäuerte Harn, darauf bis zu einer zweiten, mit R bezeichneten, Marke das Reagens (eine Lösung, enthaltend 2 pCt. Citronensäure und 1 pCt. Pikrinsäure) eingegossen, vorsichtig umgeschüttelt und 24 Stunden stehen gelassen. Nach dieser Zeit liest man ab, bis zu welchem Theilstrich der Niederschlag reicht und erfährt so ohne Weiteres die Quantität Eiweiss in Grammen für 1000 Harn. Eiweissreiche Harne müssen zuvor mit Wasser verdünnt werden. Unbedingt nöthig ist, dass die Proben stets bei derselben Temperatur ausgeführt werden.

Bestimmung der gerinnbaren Albuminstoffe im Harne durch Wägung.

1) Methode von Scherer.

248. Man misst vom filtrirten Harne 50 oder 100 CC. in eine hinreichend geräumige Porcellanschale ab, erhitzt unter gutem Umrühren über einer kleinen Flamme (nicht auf dem Wasserbade) zum Kochen, fügt, falls keine gute flockige Gerinnung des Albumin erfolgt, vorsichtig einige Tropfen sehr verdünnter Essigsäure hinzu, erhitzt wieder zum Sieden und prüft abermals, ob die Flüssigkeit über dem Coagulum klar erscheint. Ist dies erreicht, so filtrirt man noch heiss durch ein kleines bei 120° getrocknetes und gewogenes Filter, sammelt auf demselben das ganze Coagulum, wäscht gleich nach dem Ablaufen der Flüssigkeit mit warmem Wasser, zuletzt mit etwas Alkohol sorgfältig aus, trocknet dann Filter und Coagulum im Luftbade bei 120° längere Zeit und wägt nach Erkalten über Schwefelsäure, trocknet nochmals einige Zeit und wägt wieder. Zeigt sich noch Gewichtsabnahme, so ist so lange zu trocknen, bis die Wägungen übereinstimmen. Man verbrennt dann das trockene gewogene Filter mit dem Albumin, wägt die Asche und zieht ihr Gewicht nach Abzug der Filterasche vom Gewichte des Albumin ab.

Bei dieser Bestimmung wird leicht etwas zu wenig gefunden, da auch beim vorsichtigsten Ansäuern mit Essigsäure oft etwas Albumin gelöst bleibt; man prüft in dieser Beziehung das Filtrat mit Essigsäure und Ferrocyankalium. Ist der Harn sehr reich an Albumin, so verdünnt man ihn vor dem Kochen mit seinem doppelten Volumen oder noch mehr Wasser, oder giesst ihn in kleinen Portionen in das bereits siedende Wasser unter Umrühren.

2) Berzelius' Methode.

249. Am genauesten wird das Gewicht des Albumin im Harne ermittelt, indem man 30 oder 50 CC. filtrirten und mit Essigsäure angesäuerten Harn in einer kleinen Schale im Wasserbade zur möglichsten Trockne verdunstet, den Rückstand mit heissem Wasser und dann noch mit Alkohol gut auszieht, durch gewogenes Filter filtrirt, auf diesem den Rückstand sammelt, gut trocknet und wägt. Blieb in der Schale etwas Albumin zurück, so wird auch diese getrocknet mit diesem Reste und nach Erkalten über Schwefelsäure gewogen. Man legt dann das Filter mit dem Coagulum in die Schale, erhitzt allmälig zum Glühen und zum völligen Veraschen des Albumin und Filter, lässt über Schwefelsäure erkalten und wägt Schale und Asche. Die Berechnung des Procentgehaltes an Albumin ergiebt sich dann für den Harn aus den so gewonnenen Daten so einfach, dass sie nicht weiter auseinandergesetzt zu werden braucht.

Der Gehalt des Harns an Albumin beläuft sich meist nicht höher als 1 gr, selten steigt er bis zu 4 gr für 100 CC.

Zur Bestimmung der Globulinsubstanzen im eiweisshaltigen Harne wird derselbe möglichst genau neutralisirt mit Natriumcarbonat, mit Magnesiumsulfat vollständig gesättigt und nach § 266 weiter wie bei serösen Flüssigkeiten verfahren.

Nachweis von Propepton und von Pepton im Harne.

250. Zur Prüfung auf Albumosen oder Propeptone ist der Harn zunächst von coagulirbaren Eiweissstoffen durch Kochen unter passendem Zusatz von Essigsäure zu befreien, zu filtriren. Giebt das Filtrat kalt, 1) vorsichtig mit Salpetersäure bis zur stark sauren Reaction versetzt einen Niederschlag, 2) eine Fällung mit Essigsäure und Ferrocyankalium, 3) Niederschlag beim Sättigen mit Steinsalz und starkem Ansäuern mit Essigsäure oder Salzsäure, 4) Fällung beim Sättigen mit Ammoniumsulfat bei der Siedetemperatur, so ist Propepton vorhanden. Im Uebrigen vergl. §§ 173—176 bezüglich der Unterscheidung der einzelnen Albumosen und etwaiger Trennung von einander.

Zur Prüfung auf Pepton hat Hofmeister*) folgendes Verfahren angewendet: Ein halbes Liter des zu untersuchenden Harns wird in einer Schale mit 10 CC. concentrirter Lösung von Natriumacetat versetzt und concentrirte Lösung von Eisenchlorid tropfenweise hinzugefügt, bis die Flüssigkeit eine bleibende rothe Farbe angenommen hat. Ist der Harn sehr sauer, so stumpft man die Säure bis zur ganz schwach sauren Re-

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 253, Bd. 5 S. 135, Bd. 6 S. 51, 264.

action ab, kocht und bringt nach dem Erkalten auf das Filter. Das Filtrat darf weder Eisen noch Eiweiss enthalten, also mit Essigsäure und Ferrocyankalium keinen Niederschlag geben. Dasselbe wird nun mit $^1/_{10}$ seines Volumen concentrirter Salzsäure gemischt, eine saure Lösung von Phosphorwolframsäure so lange hinzugefügt, als flockiger Niederschlag entsteht, sofort filtrirt, der Niederschlag mit Wasser gewaschen, welches 3—5 pCt. Schwefelsäure enthält, dann der Niederschlag mit Barythydrat zerrieben, wenig Wasser hinzugefügt, kurze Zeit erwärmt, dann filtrirt. Im Filtrate fällt man den Baryt mit verdünnter Schwefelsäure aus, und prüft nach Abfiltriren des Bariumsulfat mit Natronlauge und Kupfervitriol, ob die Purpurfärbung der Biuretreaction eintritt. Enthält der Harn im Liter 0,2 gr Pepton, so ist dieselbe gut erkennbar, bei Gehalt von 0,1 gr im Liter ist sie schwach.

Enthalten die Harne Mucin oder mucinähnliche Stoffe, so fällt man den Harn zunächst mit unzureichender Menge von Bleiacetat.

Ammoniumsulfat fällt besonders in der bei Siedetemperatur damit gesättigten Lösung die Albumosen vollständiger als Ferriacetat, auch vollständiger als Sättigung mit Steinsalz in stark saurer Lösung.

Die Albumosen können bei sehr mässigem Salzgehalt der Lösung mit Essigsäure und Ferrocyankalium ausgefällt*) und nach Abtrennung des Niederschlags kann durch Uebersättigen mit Natronlauge und vorsichtigen Zusatz von Kupfersulfat auf Pepton (Biuretreaction) geprüft, dasselbe auch durch Alkohol gefällt, aber nicht zuverlässig rein erhalten werden. Bezüglich der weiteren Reactionen vergl. § 178.

Untersuchung des Harns auf Glucose.

Bestimmung durch Circumpolarisation.

251. Ueber den Nachweis der Glucose im Harne ist bereits § 52 gehandelt.

Die quantitative Bestimmung der Glucose im Harne geschieht durch Circumpolarisationsmessung, Titrirung oder Wägung der bei der Gährung mit Hefe gebildeten Kohlensäure.

Diabetischer Harn kann meist ohne alle Vorbereitung im Polarisationsapparate mit hinreichender Genauigkeit untersucht werden, wenn er nur völlig klar filtrirt ist. Durch Entfärbung mittelst Thierkohle erreicht man grössere Genauigkeit, doch stört die Farbe des Harns nicht bedeutend bei der Untersuchung mit dem Wild'schen Polaristrobometer bei starkem Natriumlicht oder dem Soleil'schen Apparate. Die

*) Vergl. aber in dieser Beziehung Neumeister, Zeitschr. f. Biologie. Bd. 26 S. 335.

Scala des letzteren Instruments (vergl. Anhang) giebt, bezogen auf die bestimmte Länge der untersuchten Flüssigkeitsschicht, direct in Grammen den Traubenzucker für 100 CC. Urin an. Im Uebrigen enthält für diese Circumpolarisationsbestimmungen der Anhang die nöthigen Anleitungen.

Zur Bestimmung des Zuckergehaltes in Urinen, welche nur sehr wenig davon enthalten, würde die Circumpolarisation in folgender Weise Verwendung finden können.

Man könnte eine grosse Quantität Harn mit Bleizuckerlösung fällen, filtriren, das Filtrat mit Bleiessig und etwas Ammoniak fällen, den Niederschlag in Alkohol zertheilt mit Schwefelwasserstoff zerlegen, filtriren, das Filtrat mit Thierkohle entfärben und bei mässiger Temperatur auf ein kleines Volumen abgedampft im Polarisationsapparate untersuchen. Hat man das ursprüngliche Harnvolumen, ebenso das Volumen des eingedampften Alkoholextractes bestimmt, so sind mit der bestimmten Circumpolarisation und Länge des Beobachtungsrohrs alle Momente zur Berechnung gegeben. Sind z. B. $1^1/_2$ Liter Harn in dieser Weise gefällt u. s. w. und endlich 21 CC. Alkoholextract nach dem Eindampfen erhalten und geben diese + 3,0 Scalentheile Drehung im Soleil-Ventzke'schen Apparate bei 0,2 M. Länge der untersuchten Flüssigkeitsschicht, so würden bei 0,1 M. Länge der Schicht + 1,5 Drehung gefunden sein und die 21 CC. Alkoholextract enthalten $^{21}/_{100}$. 1,5 gr oder 0,315 gr Traubenzucker. Da nun dies der ganze Gehalt der $1^1/_2$ Liter Harn an Traubenzucker repräsentirt, so enthält also 1 Liter Harn 0,21 gr Zucker.

Complicationen für diese Bestimmungen bietet der Gehalt des Harns, dessen Zuckerprocente zu ermitteln sind, an Gallensäuren, Milchzucker, Albumin und andern linksdrehenden Substanzen. Ist ein diabetischer Harn zu untersuchen, so ist es nicht nöthig, auf etwa zugleich enthaltene Gallensäure Rücksicht zu nehmen, da es nicht vorkommt, dass der Gehalt des Harns an diesen Stoffen gross genug wird, um eine bemerkbare Drehung bei 0,2 M. Länge des Beobachtungsrohrs zu bewirken. Hat man dagegen nach der obigen Angabe mit Bleiessig und Ammoniak gefällt u. s. w. und untersucht schliesslich den eingeengten Alkoholauszug im Polarisationsapparate, so kann sehr wohl eine Rechtsdrehung, die durch Gallensäure bewirkt ist, beobachtet werden. Ist diese Drehung allein durch Traubenzucker bewirkt, so verschwindet sie vollständig nach Zusatz von Hefe zur eingedampften (zur Entfernung des Alkohols) und mit etwas Wasser gemischten Flüssigkeit, wenn die Hefe bei gewöhnlicher Temperatur drei Tage auf die Flüssigkeit einwirkt. Man filtrirt darauf die Flüssigkeit, wäscht mit etwas Alkohol

nach, verdunstet auf kleines Volumen, misst dasselbe und bestimmt die Circumpolarisation. Ist eine Rechtsdrehung noch vorhanden, so kann diese nur von andern Stoffen, Gallensäuren, Milchzucker u. s. w. herrühren. Die Anwesenheit von linksdrehenden Substanzen im Harne neben Glucose lässt den Gehalt an diesem Zucker zu gering erscheinen. Um einen solchen Irrthum zu vermeiden, lässt man ebenfalls den Harn vergähren. Bei Anwesenheit von Oxybuttersäure, gepaarten Glucuronsäuren, Leo'schem Zucker wird der vergohrene Harn Linksdrehung zeigen. Die äusserst seltene Fructose vergährt allerdings auch; an sie wird man erst denken müssen, wenn die Polarisation im Verhältniss zur Titrirung zu geringe Werthe giebt und alle andern linksdrehenden Stoffe auszuschliessen sind.

Enthält der Harn neben Zucker auch Albumin, so ist dies durch Kochen von 100 CC. Harn unter Zusatz von ein Wenig Essigsäure zu coaguliren, und man verfährt zu diesem Zwecke in allen Stücken mit dem Harne, wie es bezüglich der Harnstoffbestimmung § 231 angegeben ist, gleichgültig, ob man den Harn dann direct oder nach Fällung mit Bleiessig u. s. w. auf Zucker untersuchen will.

Bestimmung der Glucose im Harne durch Titrirung mit Fehling'scher Kupferoxydlösung.

252. Anfertigung der Titrirflüssigkeit: Man löst 34,639 gr reines krystallisirtes Kupfersulfat in Wasser auf und verdünnt die Lösung zu 500 CC., löst ferner 173 gr krystallisirtes, völlig reines weinsaures Kali-Natron in wenig Wasser, fügt 100 CC. Natronlauge enthaltend 50 gr NaOH hinzu und verdünnt zu 500 CC., mischt dann zu jedesmaligem Gebrauch gleiche Volumina beider Flüssigkeiten gut. Die Fehling'sche Flüssigkeit zerlegt sich leicht beim Aufbewahren, erhält sich am Besten bei kühler gleichbleibender Temperatur im Dunkeln und in völlig gefüllten und gut verschlossenen Flaschen. Zur Titerstellung der Fehling'schen Lösung benutzt man reine krystallisirte Glucose.

Um im diabetischen Harne mit dieser Flüssigkeit den Zuckergehalt zu bestimmen, prüft man zunächst eine kleine Portion der Kupferlösung im Probirglase, ob sie nach Kochen und nachherigem Stehen, etwa nach einer Stunde, einen Niederschlag von Kupferoxydul zeigt. Ist dies nicht der Eall, so ist sie zur Titrirung geeignet. Man misst von derselben mit Pipette oder Bürette 20 CC. ab, lässt sie in einen Kolben fliessen und verdünnt sie mit dem vierfachen Volumen Wasser. Ferner lässt man von dem Harne, dessen Zuckergehalt bestimmt werden soll, 10 CC. in einen Messcylinder fliessen, verdünnt durch Wasserzusatz auf 100 CC. (ist der Harn nur in geringem Grade

zuckerhaltig, so verdünnt man wenig oder gar nicht), mischt gut und füllt mit der Mischung eine Bürette. Man erhitzt nun durch eine kleine Flamme die verdünnte Kupferlösung zum beginnenden Kochen, versetzt zunächst mit 2 CC. von dem verdünnten Harn, lässt ein paar Secunden kochen und beobachtet, ob die Flüssigkeit noch blau bleibt, fügt, wenn dies der Fall ist, 1 CC. des verdünnten Harns hinzu, kocht, fügt wieder 1 CC. Harn hinzu u. s. w., bis die Flüssigkeit über dem enstandenen rothen Niederschlage von Kupferoxydul farblos geworden ist. Man liest dann ab, wie viel von dem verdünnten Harne verbraucht ist.

Die Endreaction, d. h. die völlige Entfärbung der Flüssigkeit ist nur nach guter Abscheidung des Kupferoxydulniederschlags gut zu erkennen. Man darf jedoch nicht lange Zeit warten, bis der Niederschlag sich ganz abgesetzt hat, da sonst ein Theil des Oxyduls durch Einwirkung des Sauerstoffs der Luft wieder in Kupferoxyd übergeführt und gelöst wird. Ist also in der Flüssigkeit nicht sehr bald zu erkennen, ob noch blaue Färbung vorhanden ist, so filtrirt man schnell eine Probe derselben durch ein kleines Filter in ein Erlenmeyer'sches Kölbchen, welches auf weisses Papier gestellt ist, giesst, wenn die Flüssigkeit noch blau erscheint, in den Kolben zurück und fährt mit der Titrirung fort. Es ist deshalb zweckmässig, mehrere kleine Filterchen und solche Kölbchen bereit zu halten, um nach weiterm Harnzusatz und Kochen wiederholt zu prüfen; zeigt die filtrirte Probe Gelbfärbung, so ist bereits zuviel Zucker zugesetzt und der Zuckerüberschuss bei fehlendem Kupferoxyd durch die Natronlauge zerstört. Haben diese Proben das eine odere andere Resultat ergeben, so wiederholt man die Titrirung, deren Ende sich jetzt genauer bestimmen lässt, nachdem die Grenzen des zuviel und zu wenig bereits nahezu bekannt sind. Die Titrirung ist mindestens dreimal zu wiederholen. Die früher empfohlenen Endproben mit Salzsäure und Ferrocyankalium, Prüfung mit Fehling'scher Lösung u. s. w. sind aus mehreren Gründen zu verwerfen.

Bei der Berechnung nimmt man zur Grundlage, dass zur Reduction von 1 CC. Fehling'scher Lösung 5 Milligr. Glucose erforderlich sind; 20 CC. dieser Lösung entsprechen sonach 0,1 gr Glucose. War nun z. B. zu den 20 CC. Lösung 15,5 CC. des verdünnten Harns nöthig zur völligen Entfärbung und war der Harn auf $^1/_{10}$ verdünnt, so enthalten 1,55 CC. Harn 0,1 gr Glucose und 100 CC. Harn also $\frac{100 \,.\, 0,1}{1,55}$ oder 6,45 gr Zucker.

Diese schnell auszuführende Methode, welche für klinische Zwecke vollständig ausreicht, kann ganz genaue Resultate nicht geben, da die der Berechnung zu

Grunde liegende Annahme, dass 1 Aequiv. Glucose 10 Aequiv. Kupferoxyd reducire bei Innehaltung der oben gegebenen Vorschriften nicht richtig ist*).

Das Reductionsvermögen der Glucose ist verschieden je nach der Concentration der Zuckerlösung und je nach dem Verdünnungsgrad der Fehling'schen Lösung. Nach Soxhlet reduciren 50 CC. unverdünnter Fehling'scher Flüssigkeit 23,75 CC. einer 1procentigen Glucoselösung während 2 Minuten dauernden Kochens, aber auch nur dann genau, wenn die Zuckerlösung nicht nach und nach, sondern mit einem Male zugesetzt wird. Hieraus ergiebt sich folgende Vorschrift für die Ausführung einer genauen Titrirung: 50 CC. der Fehling'schen Lösung werden zum Kochen erhitzt und von dem unverdünnten Zuckerharn portionsweise so lange zugesetzt, bis die Flüssigkeit nach dem Kochen nicht mehr blau erscheint. Durch diese Vorprobe stellt man den Zuckergehalt der Lösung annähernd — etwa auf 10 pCt. der Gesammtmenge — fest. Man verdünnt nun den Harn soweit, dass er 1 pCt. Zucker enthält. Die wahre Concentration wird dann 0,9 bis 1,1 pCt. sein. Diese geringe Abweichung von der gewünschten hat auf das Resultat keinen Einfluss. Man erhitzt nun neuerdings 50 CC. Fehling'scher Lösung, ohne dieselbe mit Wasser zu verdünnen, mit einer dem vorhergehenden Versuch entsprechenden Menge des verdünnten Zuckerharns 2 Minuten lang und sieht (event. nach dem Filtriren), welche Farbe die Flüssigkeit hat. Ist sie blau, so nimmt man zu einem neuen Versuch 1 CC. von der Zuckerlösung mehr; ist sie gelb, so nimmt man 1 CC. weniger. In der Anstellung solcher Versuche fährt man so lange fort, bis zwei Versuche, in welchen nur um 0,1 CC. verschiedene Mengen Harnlösung angewendet wurden, Filtrate ergeben, von denen das eine bläulich, das andere gelblich befunden wird. Die zwischen diesen beiden Mengen liegende Quantität ist gerade nöthig zur Reduction von 50 CC. Fehling'scher Flüssigkeit, enthält also 0,2375 gr Glucose. Unter Berücksichtigung der Verdünnung lässt sich leicht der Procentgehalt des Harns an Zucker berechnen.

Enthält ein Harn nur sehr geringe Spuren von Zucker, so behandelt man ihn mit Bleizuckerlösung, Bleiessig und Ammoniak u. s. w., wie es im vorigen Paragraphen angegeben ist.

Nachdem der Bleiniederschlag in Alkohol zertheilt und durch Einleiten von Schwefelwasserstoffgas zerlegt und das Schwefelblei abfiltrirt ist, wird das alkoholische Filtrat auf dem Wasserbade zum Syrup verdunstet, dieser Rückstand in etwas Wasser gelöst. Man misst das Volumen dieser Lösung, und füllt damit eine Bürette, verdünnt dann 10 CC. Fehling'scher Kupferlösung mit 40 CC. Wasser, mischt gut und lässt von dieser Mischung 5 oder 10 CC. genau abgemessen in einen Kolben fliessen und fügt bei schwachem Kochen dieser verdünnten Kupferlösung im Kolben in kleinen Portionen so lange jene Zuckerlösung aus der Bürette hinzu, bis die völlige Entfärbung erreicht ist. Die Berechnung ist dann einleuchtend.

Um Zucker in eiweisshaltigem Harn zu titriren, verfährt man zur vorhergehenden Entfernung des Eiweisses in der Weise, wie es behufs der Harnstofftitrirung § 231 angegeben ist.

*) Soxhlet, Journ. f. prakt. Chem. (N. F.) Bd. 21 S. 227, 289.

Der Gehalt des Harns an Harnsäure bedingt im diabetischen Harne meist keinen wesentlichen Fehler, wollte man dagegen einen normalen Harn direct titriren, so würde man ganz fehlerhafte Resultate erhalten.

Für diesen letzteren Zweck kann man sich der Methoden von Flückiger,[1]) Salkowski[2]) oder Munk[3]) bedienen.

Auf Liebig's Veranlassung ist von Knapp[4]) zur Bestimmung des Traubenzuckergehaltes ein Verfahren geprüft und empfohlen, welches auf der Reduction von Cyanquecksilber in alkalischer Lösung durch Traubenzucker beruht. 10 gr trockenes Cyanquecksilber werden in Wasser gelöst, 100 CC. Natronlauge von 1,145 spec. Gew. hinzugefügt und die Flüssigkeit auf 1 Liter verdünnt. Man misst 40 CC. dieser Lösung in eine Porzellanschale ab, erhitzt zum Sieden und lässt die etwa ½procentige Zuckerlösung wie bei dem Fehling'schen Verfahren hinzufliessen, bis alles Quecksilber reducirt ist. Um dann schliesslich zu erkennen, ob die Reduction vollständig geschehen ist, giesst man in ein Bechergläschen etwas stärkstes Schwefelammonium, spannt darüber ein Stück feines schwedisches Filtrirpapier und bringt einen Tropfen der zu prüfenden Flüssigkeit auf dies Papier. Es entsteht ein brauner Fleck, wenn noch nicht alles Quecksilber reducirt ist.

Nach Worm-Müller[5]) ist die Knapp'sche Cyanquecksilberlösung zur Titrirung mit dem 3—4fachen Volumen Wasser zu verdünnen und die Zuckerlösung aus der Bürette sehr langsam zuzusetzen. Bei Benutzung der unverdünnten Lösung wird zu wenig Zucker angezeigt, ebenso bei zu schnellem Zusatz der Zuckerlösung. Lässt man die Mischung nach beendeter Titrirung einige Zeit stehen, so löst sich besonders bei concentrirten Harnen allmälig Quecksilber wieder auf.

Statt der Prüfung mit Schwefelammonium empfiehlt Worm-Müller die von Pillitz angegebene Reaction mit starkem Schwefelwasserstoffwasser und Salzsäure oder Essigsäure.

Nach Hoppe-Seyler's Versuchen mit menschlichem Harn lässt die Knapp'sche Methode die Genauigkeit der Bestimmung mit der Fehling'schen Flüssigkeit nicht erreichen.

Bestimmung der Glucose im Harne durch Gährung.

253. Obwohl die Zerspaltung des Zuckers im Harne durch Gährung nie so vollkommen ist, dass die dabei gebildete Kohlensäure ein sehr genaues Mass für den Zucker abgeben könnte, ist doch diese Bestimmungsmethode um so weniger zu verwerfen, als sie die sicherste qualitative Controle dafür giebt, ob der Harn geringen oder reichlichen Zuckergehalt besitzt.

Zur Ausführung dieser Probe ist ein Apparat sehr geeignet, den Will und Fresenius zur Kohlensäurebestimmung empfohlen haben; Fig. 5 giebt eine Darstellung des Apparates, welche eine detaillirte

---

1) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 323.
2) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1886 No. 10.
3) Arch. f. pathol. Ann. Bd. 105 S. 63.
4) Ann. Chem. Pharm. Bd. 154 S. 252.
5) Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 26 S. 78, 87.

Beschreibung überflüssig macht. In den Kolben *C* bringt man ein Wenig durch Schlämmen mit Wasser und Absetzenlassen gereinigte Hefe, lässt aus einer Bürette oder Pipette 20 CC. vom Harne darauffliessen, füllt den Kolben *D* ein paar Linien hoch mit concentrirter Schwefelsäure, setzt die Stopfen auf beide Kolben luftdicht auf, verschliesst auch die Oeffnung des Röhrchen *a* mit einem Stöpfchen *b* und wägt nun den ganzen so gefüllten Apparat. Nach kurzer Zeit wird sich dann beim Stehen bei gewöhnlicher Temperatur der Eintritt der Gährung dadurch bemerklich machen, dass einzelne Luftbläschen in dem Kolben *C* an die Oberfläche der Flüssigkeit steigen, dann werden auch grössere Luftblasen bald durch die Schwefelsäure im Kolben *D* streichen; diese Entwickelung wird immer stürmischer im Verlaufe einiger Stunden, man muss jedoch 2 Tage lang bei 20—30° stehen lassen, um sicher zu sein, dass die

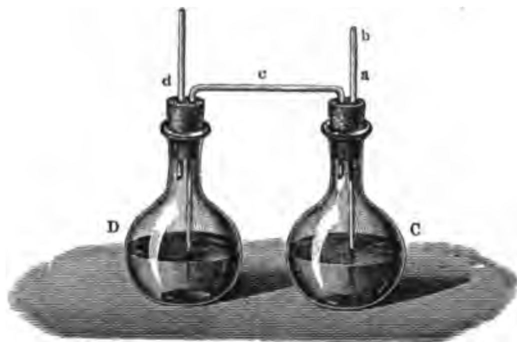


Fig. 5.

Gährung völlig beendet ist. Ist sie völlig zu Ende, so klärt sich die Flüssigkeit, indem sich die Hefe absetzt, und es entweichen keine Gasblasen durch die Schwefelsäure. Man saugt dann, nachdem das Stöpfchen *b* entfernt ist, am Röhrchen *d* so lange Luft durch den Apparat, bis man sicher ist, dass alle Kohlensäure, die sich noch in dem Kolben befand, durch atmosphärische Luft ausgetrieben ist, setzt das Stöpfchen *b* wieder auf und wägt den Apparat abermals. Durch Subtraction des jetzt gefundenen Gewichts von dem des Apparates vor der Gährung erhält man das Gewicht der entwichenen Kohlensäure und dies multiplicirt mit 2,045 giebt das Gewicht des Zuckers, welcher in Alkohol und Kohlensäure bei dem Versuche zerfallen war.

Gute Resultate erhält man durch die Bestimmung der Menge des Zuckers aus der Differenz der specifischen Gewichte des frischen und des vergohrenen Harns nach Roberts.*) Der Harn muss ganz klar

*) Edinburgh Medic. Journ. 1861.
Manassein, Deutsch. Arch. f. klin. Medicin Bd. 10 S. 73.

sein und schwach sauer reagiren, event. mit etwas Weinsäure versetzt werden. Die Bestimmung des spec. Gewichts, welche man mit sehr genauen Aräometern (4 Decimalstellen), besser mit dem Pyknometer vornimmt, muss vor und nach der Vergährung bei derselben Temperatur ausgeführt werden. Die Differenz der spec. Gewichte, multiplicirt mit dem constanten Factor 230 giebt direct den Zuckergehalt des Harns in Procenten an. Für kleine Zuckermengen eignet sich diese Methode nicht.

Aufsuchung der Gallensäuren im Harne und annähernde Bestimmung ihrer Quantität.

254. Kommt es nur darauf an, zu ermitteln, ob Gallensäuren überhaupt im Harne enthalten sind, so fällt man denselben mit Bleiessig und ein wenig Ammoniak, wäscht den Niederschlag etwas mit Wasser, kocht ihn dann mit Alkohol und filtrirt heiss. Die Bleisalze der Gallensäuren lösen sich in heissem Alkohol, und wenn man nun diese Lösung mit einigen Tropfen Sodalösung versetzt im Wasserbade zur Trockne verdunstet, den Rückstand mit absolutem Alkohol auskocht, so gehen die Natronsalze der Gallensäuren in Lösung über und werden beim Verdunsten des filtrirten alkoholischen Auszugs auf kleines Volumen, Fällen und Stehenlassen mit einem Ueberschuss von Aether in verschlossener Flasche oft krystallisirt erhalten. Man braucht, wenn man nur prüfen will, ob es im Allgemeinen Gallensäuren sind, nicht abzuwarten, bis die durch Aether bewirkte Fällung krystallinisch wird, sondern kann den harzigen Niederschlag gleich in etwas Wasser lösen und die Pettenkofer'sche Probe damit anstellen (vergl. § 141), ausserdem im Polarisationsapparate die Rechtsdrehung der concentrirten Lösung der Natronsalze constatiren; will man aber erfahren, ob Glycocholsäure, Taurocholsäure oder Cholalsäure zugegen sind, so lässt man die durch Aether gefällten Natronsalze am Besten zunächst krystallisiren, giesst dann den Aether ab, löst die Krystalle in wenig Wasser und verfährt nach § 144.

Um direct im Harne auf Gallensäuren prüfen zu können, ist von Strassburg*) empfohlen, ein Stück Filtrirpapier in den zu untersuchenden Harn zu tauchen, nachdem dem Harne ein wenig Rohrzucker zugesetzt ist. Man lässt das Papier dann trocknen und bringt mit einem Glasstabe einen Tropfen reine concentrirte Schwefelsäure darauf. Nach ungefähr $^1/_4$ Minute entsteht an der Stelle eine besonders im durchfallenden Lichte gut erkennbare, schön violette Färbung, wenn der Harn Gallensäure enthält. Die Färbung tritt noch bei sehr bedeutender Verdünnung ein.

*) Arch. f. d. ges. Physiol Bd. 4 S. 461.

v. Udránszky*) empfiehlt zur Prüfung nur einen Tropfen Harn zu verwenden. Derselbe wird mit 1 CC. Wasser verdünnt, dann mit 1 Tropfen Furfurolwasser und 1 CC. concentrirter Schwefelsäure versetzt; doch gelingt die Reaction, auch in dieser Weise angestellt, in nicht vielen Fällen.

Der Gehalt des Harns an Gallensäure ist selbst bei sehr hochgradigem Icterus nur sehr unbedeutend.

Um ihn annähernd zu bestimmen, verfährt man, was die Isolirung der Gallensäure in einem gemessenen Volumen (mindestens 400 CC. Harn) anbetrifft, so wie es oben bezüglich des qualitativen Nachweises angegeben ist. Die alkoholische Lösung der gallensauren Natronsalze nöthigenfalls durch etwas Thierkohle entfärbt und auf ein kleines Volumen eingeengt wird jetzt zunächst gemessen und dann im Polarisationsapparate die Drehung bestimmt.

Nachweis und Isolirung von Allantoïn, Leucin und Tyrosin, Milchsäure, fetten flüchtigen Säuren, Inosit, Bernsteinsäure im Harne.

255. Zum sicheren Nachweis von Leucin und Tyrosin im Harne ist es nöthig, wenigstens einigermassen diese Stoffe von anderen zu isoliren. Das Tyrosin scheidet sich bei sehr reichem Gehalte des Harns zum Theil in feinen Krystallnadeln als Sediment aus. Es löst sich dann leicht nach dem Abfiltriren in Ammoniak und krystallisirt beim Verdunsten des Ammoniak in feinen seidenglänzenden Nadeln wieder aus. Dieses Vorkommen eines Sedimentes von Tyrosin ist jedoch ein äusserst seltenes. Mit dem aus Ammoniak umkrystallisirten Tyrosin sind dann die im § 129 angegebenen Reactionen anzustellen.

Um Leucin und Tyrosin aus dem Harne darzustellen, fällt man mit Bleiessig und filtrirt, behandelt das Filtrat mit Schwefelwasserstoff und verfährt auch im Uebrigen ganz wie es in § 93 nach Hlasiwetz und Habermann und in § 129 angegeben ist.

Zur annähernden Bestimmung der Quantität ist kein anderes Mittel bekannt als die möglichste Isolirung durch Umkrystallisiren und Wägung.

Die Aufsuchung von Allantoïn im Harne geschieht nach den § 90 beschriebenen Darstellungsmethoden; zum Beweis, dass man Allantoïn vor sich hat, ist wenigstens die Analyse der Silberverbindung erforderlich.

Zur Aufsuchung von Inosit fällt man mehrere Liter Harn zunächst mit Bleizuckerlösung bei schwach saurer Reaction so lange Niederschlag entsteht, filtrirt und fällt das Filtrat mit Bleiessig so lange Niederschlag

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 12 S. 373.

entsteht, fügt dann noch etwas Ammoniak hinzu, rührt um und lässt zwei Tage ruhig stehen. Man zerlegt dann den abfiltrirten und in Wasser zertheilten basischen Bleiniederschlag mit Schwefelwasserstoff, dampft das Filtrat nach völliger Abscheidung des Bleies zum Syrup ein und behandelt diesen mit viel absolutem Alkohol. Der abfiltrirte Niederschlag wird in wenig Wasser gelöst und fractionirt mit Alkohol und Aether gefällt. Die Scherer'sche Probe ergiebt von den erhaltenen Krystallen die Identität mit Inosit (vergl. § 135).

Auch hinsichtlich des Nachweises von Milchsäure, Bernsteinsäure, flüchtigen fetten Säuren der Gruppe $C_n H_n O_2$ sind in der ersten Abtheilung bei diesen einzelnen Körpern die verwendbaren Methoden bereits angegeben.

Untersuchung der Farbstoffe des Harns.

256. Von besonderer Wichtigkeit ist die Auffindung von Gallenfarbstoffen und den näheren Zersetzungsproducten des Blutfarbstoffs im Harne. Zum Nachweis der letzteren dient besonders das Verhalten im Spectrum, welches keine Verwechselung mit irgend einem der bis jetzt untersuchten Farbstoffe, die im Harne vorkommen, zulässt. Ein durch Methämoglobin roth, braun bis schwarz gefärbter Harn giebt beim Kochen flockigen, je nach der Reaction des Harns braunen oder grünlichen Niederschlag. Zusatz von Mineralsäuren bringt braunen Niederschlag hervor, besonders Salpetersäure. Im Spectrum untersucht, zeigt ein solcher Harn den charakteristischen Streifen (vergl. §§ 189 und 191). Leicht und schnell kann man das Methämoglobin in Oxyhämoglobin, in Hämoglobin und in Kohlenoxydhämoglobin überführen.

Hämoglobin selbst kommt nur in unversehrten Blutkörperchen im Harne vor. Man entdeckt es 1) durch mikroskopische Untersuchung des Sedimentes, welches sich beim Stehen binnen einiger Stunden absetzt, 2) durch die Prüfung des Harns im Spectrum, wo sich noch bei geringem Gehalte an Blutkörperchen die charakteristischen Streifen des Oxyhämoglobins zeigen (vergl. §§ 186 u. 191).

Bezüglich der Untersuchung des Harns auf Gallenfarbstoffe vergl. § 152. Schwanda*) hatte empfohlen, den Harn einzudampfen, den Rückstand in Wasser zu lösen und zu filtriren, das Filter mit kaltem Wasser zu waschen, zu trocknen, mit Chloroform zu extrahiren und diese Lösung mit Salpetersäure zu prüfen. Die Fällung des Harns mit Kalkmilch, Einleiten von CO_2, Stehenlassen für einige Stunden, Abfiltriren und Extraction des Niederschlags mit Chloroform und etwas

*) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 6 S. 501.

Essigsäure (vergl. § 152) ist dieser Behandlung jedenfalls vorzuziehen, auch bei Anwesenheit von Methämoglobin allein zur Aufsuchung von Bilirubin geeignet.

Aus stark icterischem Harne kann man oft ohne Weiteres durch Schütteln mit Chloroform, Abgiessen von demselben, Verdunsten des Chloroform, nochmaliges Lösen des Rückstandes in wenig Chloroform und Verdunstenlassen auf dem Uhrglase rothe rhombische Prismen von Bilirubin erhalten, welche mit Salpetersäure mikroskopisch sehr schön die Regenbogenfarben zeigen, in Alkalien sich leicht lösen und an der Luft bald eine grüne Lösung geben. Rücksichtlich der weiter zu beachtenden Verhältnisse vergl. § 152. Hinsichtlich der Reactionen des normalen braunen und der pathologischen rothen Farbstoffe ist in §§ 153, 218 und 243 bereits das Wichtigere, so weit etwas bekannt ist, auseinandergesetzt.

In dunklen braunroth bis schwarz gefärbten Harnen sind in neuerer Zeit Farbstoffe beobachtet,*) welche mit dem Hämatoporphyrin identisch oder diesem Zersetzungsproducte des Blutfarbstoffs sehr ähnlich sind. Die spectroskopischen Bestimmungen von Salkowski sprechen sehr entschieden für die Identität. Da das Hämatoporphyrin auf die eine oder andere Weise künstlich dargestellt (vergl. oben § 148) sehr wandelbar ist bei scheinbar geringfügigen Einwirkungen, kann es nicht auffallen, dass auch die verschiedenen Beobachtungen an solchen Harnen nicht gut übereinstimmen. Urobilin und andere Farbstoffe sind ausserdem wohl stets in solchen Harnen zu finden.

Ausser der spectroskopischen Untersuchung des Harns 1) ohne andern Zusatz als Wasser zu verschiedenen Verdünnungen, 2) nach starkem Ansäuern mit Schwefelsäure oder Salzsäure, 3) nach Zusatz von Ammoniak oder Aetznatron zur stark alkalischen Reaction sind bei der Untersuchung solcher Harne durch Barium- oder Calciumchlorid Niederschläge zu erzeugen, durch nachherigen Zusatz von kleinen Quantitäten Natriumcarbonat zu vermehren, einige Zeit stehen zu lassen, dann die abfiltrirten Niederschläge mit schwefelsäurehaltigem Alkohol warm zu extrahiren, diese Auszüge spectroskopisch zu prüfen. Endlich können diese alkoholischen Lösungen durch Einwirkung von Zinn und Salzsäure auf dem Wasserbade reducirt werden. Sobald die gelbe Färbung eintritt, sind die spectroskopischen Erscheinungen des Urobilins zu finden,

*) Mac Munn, Proceed Roy. Soc. 1880 No. 208.
Stokvis, Neederl. Tijdschr. v. Geneesk. 1889. II S. 413.
E. Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15 S. 286.
Ad. Jolles, Internation. klin. Rundschau 1891 No. 49, 50.
O. Hammarsten, Skandinav. Arch. f. Physiol. 1891 Bd. 3 S. 319.

die bei weiterer Reduction wieder verschwinden. Hinsichtlich der spectroskopischen und anderen Eigenschaften des Hämatoporphyrins und seiner Reduction siehe § 145, § 148 und § 191. In letzterem Paragraphen auch das Spectrum.

Harnniederschläge, Harnsteine, Nierensteine.

Allgemeines.

257. Harnsteine und Harnsedimente können organisirte und chemische, nicht organisirte Körper enthalten. Auf die organisirten Theile derselben, Blutkörperchen, Eiterkörperchen, die sogenannten Fibrin- oder Nierencylinder u. s. w., die durch ihre mikroskopischen Formen zu erkennen sind, kann hier nicht Rücksicht genommen werden, aber auch die chemischen Ausscheidungen im Harne bieten schon grosse Mannigfaltigkeit. Von anorganischen Körpern sind besonders phosphorsaurer Kalk, phosphorsaure Magnesia-Ammoniak in diesen Sedimenten häufig; von organischen Oxalsäure, Harnsäure, erstere stets als Kalksalz, letztere frei oder an Kali, Natron, Ammoniak, Kalk gebunden; seltener erscheinen bei Menschen in den Sedimenten kohlensaurer Kalk, Xanthin, Cystin, Fette. Schwefelsaurer Kalk wurde einmal als Sediment im menschlichen Harne gefunden.*) Bei Pflanzenfressern tritt kohlensaurer Kalk häufig als Harnsediment, auch in Blasensteinen auf; oxalsaurer Kalk ist im Pferdeharn sehr häufig als Sediment gefunden, und bildet zuweilen grosse krystallinische Concremente bei Schweinen. Concremente von phosphorsaurer Magnesia-Ammoniak und phosphorsaurem Kalke sind bei Thieren nicht selten beobachtet, mehrmals bei Schafen auch kieselsäurereiche Steine.

Mikroskopische Untersuchung der Harnsedimente.

Man lässt den zu prüfenden Harn in völlig reinem Gefässe einige Minuten bis Stunden an einem kühlen Orte stehen. Enthält der Harn nur Fette als kleine Oeltröpfchen, so lagert sich überhaupt kein Niederschlag ab, in allen anderen Fällen werden sich bald die Sedimente am Boden abgesetzt haben, so dass man den grössten Theil der Flüssigkeit klar abgiessen kann. Man nimmt dann von dem Reste der Flüssigkeit, welcher das Sediment enthält, mit einer kleinen Pipette (einer an einem Ende ausgezogenen und im verengten Theile abgeschnittenen Glasröhre) eine Probe heraus, bringt einen Tropfen auf den Objectträger, legt das Deckglas auf und untersucht bei 200 bis 300facher Vergrösserung mit dem Mikroskope. Farblose Krystalle können bestehen aus phosphorsaurer Magnesia-Ammoniak, phosphorsaurem Kalke, schwefelsaurem oder

*) Valentiner, Med. Centralbl. 1863 S. 913.

oxalsaurem Kalke, Cystin, Xanthin, Tyrosin, und zwar bilden schwefelsaurer Kalk und Tyrosin feine Nadeln, phosphorsaurer Kalk rhombische Prismen, Cystin sechsseitige oder rhombische, Xanthin sechsseitige Tafeln, oxalsaurer Kalk tetragonale Octaëder, phosphorsaure Magnesia-Ammoniak drei- oder vier- oder sechsseitige grosse Prismen mit schrägen Endflächen, oft sind sie den Octaëdern des oxalsauren Kalks ähnlich, wenn die Prismen kurz sind, meist erscheint dies Salz in der sogenannten Sargdeckelform (dreiseitigem Prisma, auf dessen einer Kante eine Fläche in gleicher Zone aufgesetzt ist und mit zwei gegen einander stark geneigten schrägen Endflächen). Farblose Kugeln und rundliche Knollen oder Dumbbells bestehen aus kohlensaurem oder oxalsaurem Kalke. Gelb oder roth oder braun gefärbte Krystalle in Harnsedimenten bestehen stets aus Harnsäure. Gelbe oder röthlich braune Kugeln, Knollen, Stechapfel- oder Morgensternformen bilden harnsaure Salze, doch ist ihre Färbung in alkalischen Harnen oft kaum bemerkbar. Feine hinsichtlich ihrer Form nicht bestimmbare Körnchen und Kügelchen bilden harnsaure Salze, phosphorsaurer Kalk, Xanthin.

Man lässt dann einen Tropfen starker Essigsäure zur Probe unter das Deckglas fliessen: Gelöst werden phosphorsaurer und kohlensaurer Kalk (letzterer meist mit erkennbarer Gasentwickelung), phosphorsaure Magnesia-Ammoniak; ungelöst bleiben schwefelsaurer und oxalsaurer Kalk, Cystin, Xanthin, Harnsäure. Harnsaure Salze werden unter vorausgehender theilweiser oder vollständiger Lösung durch die Essigsäure in Krystalle von Harnsäure verwandelt. Um über die Gegenwart von harnsauren Salzen in Sedimenten Sicherheit zu erhalten, lässt man die Probe mit 1 Tropfen Essigsäure mehrere Stunden stehen und prüft dann mit dem Mikroskope, ob sich gefärbte Krystalle abgeschieden haben.

Waren die Krystalle nicht gelöst durch Essigsäure, so lässt man zu einer dritten Probe einen Tropfen Salzsäure fliessen, ungelöst bleibt dann nur Harnsäure und schwefelsaurer Kalk.

Besteht das Sediment aus schwefelsaurem Kalk, so löst es sich in viel Wasser auf, aber auch Tyrosin, Xanthin, Harnsäure und harnsaure Salze, selbst phosphorsaure Magnesia-Ammoniak sind nicht völlig unlöslich in Wasser.

Durch einen Tropfen Aetzammoniak werden harnsaure Salze, oxalsaurer oder phosphorsaurer oder schwefelsaurer Kalk nicht verändert; Tyrosin, Cystin, Xanthin lösen sich leicht darin auf, Krystalle von freier Harnsäure werden allmälig oberflächlich arrodirt und mit Körnchen besetzt.

Enthält der Harn eine Trübung allein durch Fett in molecularer

feinster Zertheilung, so wird er durch Schütteln mit Aether in einer Flasche klarer. Der Aether nach einiger Zeit abgegossen giebt beim Verdunsten eine fettige Masse, die in den wenigen bisher untersuchten Fällen aus den gewöhnlichen Fetten Oleïn, Palmitin, Stearin bestanden hat. Ein solcher fetthaltiger sogenannter chylöser Harn wird nur sehr selten beobachtet, er scheint in allen Fällen albuminhaltig gewesen zu sein.

Die harnsauren Salze unterscheiden sich von den meisten anderen erwähnten Bestandtheilen der Sedimente dadurch, dass sie sich beim Erwärmen mit dem Harne auf Bluttemperatur leicht auflösen, nur das Tyrosin löst sich auch und noch leichter in heissem Wasser, unterscheidet sich aber durch seine Krystallform. Nach Heintz enthalten die harnsauren Salze als Sedimente im Harne Kalk oder Kali, wenn sie feinkörnig erscheinen.*)

Calciumphosphat von der Zusammensetzung $CaHPO_4 + 2 H_2O$ wird zuweilen als rhombische Tafeln in stark saurem Harne gefunden, wegen seiner Krystallform könnte er nur mit Harnsäure oder phosphorsaurer Magnesia-Ammoniak verwechselt werden. Die Löslichkeit in Säuren unterscheidet dies Salz von Harnsäure und sein Vorkommen im scharf sauren Harne lässt keine Verwechselung mit dem Ammoniak-Magnesia-Phosphat zu, da dies nur im alkalischen Harne erscheint.

Der gewöhnliche neutrale phosphorsaure Kalk kann im alkalischen, neutralen oder sehr schwach sauren Harne als Sediment auftreten, im alkalischen ist er stets als Sediment enthalten und im zersetzten Harne stets mit Magnesia-Ammoniak-Phosphat, oft auch mit harnsauren Salzen gemengt. Seine Unlöslichkeit in Ammoniak unterscheidet ihn von Xanthin, die Löslichkeit in Säuren ohne nachherige Ausscheidung von Krystallen sowie die Unlöslichkeit in warmem Wasser von harnsauren Salzen.

Der oxalsaure Kalk, in seinen ausgebildeten Krystallen nur mit phosphorsaurer Magnesia-Ammoniak zu verwechseln, unterscheidet sich von diesem Salze durch die Unlöslichkeit in Essigsäure. Wenn er in Kugeln und Dumbbells den harnsauren Salzen und kohlensaurem Kalke ähnlich erscheint, ist gleichfalls die Unveränderlichkeit in Essigsäure und Unlöslichkeit in warmem Wasser für dies Salz charakteristisch.

Der schwefelsaure Kalk, dem Tyrosin in der Krystallform ähnlich, unterscheidet sich durch die Schwerlöslichkeit in Ammoniak von diesem, sowie durch Feuerbeständigkeit.

*) Bence-Jones, Chem. Centralblatt 1862 S. 316. Heintz, ebendas. 1863 S. 524.

Der kohlensaure Kalk ist hinreichend charakterisirt, wenn sich ein körnig kugeliges Sediment mit Aufbrausen in Säuren löst.

Phosphorsaure Magnesia-Ammoniak kommt nur im alkalischen Harne vor, ist stets gut krystallisirt, in Essigsäure leicht löslich und deshalb mit keinem anderen hier in Betracht kommenden Körper zu verwechseln. Die Krystalle sind nie, wie Hassall und Beale angeben, im icterischen Harne gefärbt, sie sind vielmehr stets farblos.

Ein Magnesiumphosphat von der Zusammensetzung $Mg_3(PO_4)_2 + 22 H_2O$ wurde in alkalischem concentrirten Harne als cholesterinähnliche Tafeln gefunden. Zur Unterscheidung dieses Salzes, des Ammoniummagnesiumphosphats und Calciumphosphats empfehlen Tollens und Stein*) eine Lösung von käuflichem Ammoniumcarbonat in 5 Theilen Wasser gelöst. Die Ammoniummagnesiumverbindung bleibt darin unverändert, die Magnesiumphosphatkrystalle werden rauh und zerfressen, Calciumphosphat verwandelt sich in Kügelchen, die am Glase haften.

Harnsäure bildet meist rhombische Tafeln; ihre gelbe bis braune Färbung, Unlöslichkeit in Salzsäure und in Ammoniak unterscheiden sie von allen anderen hier wichtigen Körpern.

Xanthin ist gleichfalls in Ammoniak löslich, schwerer in Salzsäure, noch schwerer in heissem Wasser.

Cystin, stets in den oben geschilderten Krystallen sich darstellend, ist unlöslich in heissem Wasser, leicht löslich in Ammoniak.

Xanthin und Cystin geben Krystalle beim Verdunsten der ammoniakalischen Lösung. Die in dem ersten Abschnitt bei der Schilderung der einzelnen Stoffe beschriebenen Reactionen, insbesondere die Murexidprobe für Harnsäure, die Probe mit Salpetersäure und Kalilauge für Xanthin, die Probe mit Kalilauge auf Silberblech für Cystin u. s. w. geben die weitere Bestätigung für die Erkennung der einzelnen Körper.

Enthalten die Sedimente mehrere Körper gemengt, deren Unterscheidung im Gemenge nicht mit Sicherheit gelingt, und ist genügendes Material vorhanden, so sammelt man eine Quantität davon durch Abgiessen oder Filtriren und trennt die einzelnen Bestandtheile zu ihrem Nachweise nach der im folgenden Paragraphen angegebenen Methode.

Qualitative Analyse der Harnsedimente und der Concretionen in den Harnwegen.

258. Eine kleine Probe der zu analysirenden Substanz erhitzt man zunächst auf Platinblech; zeigt sich keine Schwärzung, so kann die Analyse der Substanz nach den in § 202 u. 203 angegebenen Methoden

*) Ann. Chem. Pharm. Bd. 187 S. 79.

der Untersuchung auf anorganische Stoffe ausgeführt werden. Verkohlt die Substanz, so fragt es sich, ob nach völligem Verbrennen der Kohle Asche zurückbleibt.

Eine grössere Portion des Sedimentes, Gries u. s. w. wird darauf in einem kleinen Mörser möglichst fein zerrieben, das Pulver in kochendes Wasser gebracht, einige Zeit darin digerirt, dann heiss filtrirt und mit heissem Wasser der Rückstand ausgewaschen, das Filtrat in einer Porcellanschale auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen abgedampft, dann einige Stunden an kühlem Orte stehen gelassen.

1) Das Wasserextract kann enthalten: harnsaures Alkali, freie Harnsäure, etwas phosphorsaure Ammoniak-Magnesia, schwefelsauren Kalk, Tyrosin (letzteres ist nie in Gries oder Steinen, sondern nur äusserst selten als weiches Sediment gefunden) und alle diese Stoffe scheiden sich beim Abdampfen und Stehenlassen fast vollständig wieder aus.

Hat sich kein Niederschlag gebildet, so prüft man eine kleine Portion der Flüssigkeit auf Platinblech, ob sie überhaupt etwas aufgelöst enthält; zeigt sie dabei einen Verdampfungsrückstand, der beim weiteren Erhitzen verkohlt, so verfährt man mit derselben in gleicher Weise, als wenn sich Ausscheidungen gebildet haben. Man versetzt nämlich die Flüssigkeit (wenn sich Niederschläge gebildet haben, ohne zu filtriren) mit Salzsäure und lässt einige Stunden stehen*). Es scheidet sich beim ruhigen Stehen die durch Salzsäure freigemachte Harnsäure krystallisirt ab, während phosphorsaure Magnesia, Tyrosin gelöst werden. Die abgeschiedenen Krystalle untersucht man nach § 89 auf Harnsäure (Murexidprobe). Die davon abgegossene Flüssigkeit theilt man in zwei Theile, den einen versetzt man mit Platinchlorid und lässt einige Zeit stehen, den zweiten verdampft man im Wasserbade zur Trockne und extrahirt den Rückstand mit etwas Ammoniak, Tyrosin wird dadurch gelöst sowie Chlorkalium, Chlornatrium, während phosphorsaure Magnesia-Ammoniak und schwefelsaurer Kalk ungelöst bleiben. Man filtrirt, dampft das Filtrat zur Trockne ab und prüft den Rückstand im Spectralapparate auf Kalium und Natrium (vergl. den Anhang, optische Untersuchungsmethoden). Der etwa von Ammoniak nicht gelöste Rückstand wird mit etwas Salpetersäure gelöst und ein Theil der Lösung mit Chlorbarium auf Schwefelsäure und das Uebrige mit molybdänsaurem Ammoniak (vergl. § 17) auf Phosphorsäure untersucht.

Die erstere Portion obiger salzsaurer Lösung, welche mit Platin-

*) Hier sowie in den unten angegebenen Fällen ist es zweckmässig, 24 Stunden stehen zu lassen, doch ist kürzere Zeit hinreichend, wenn es sich nicht um Spuren handelt.

chlorid versetzt war, giebt entweder sogleich oder nach kurzem Stehen einen gelben Niederschlag, wenn sie Ammoniak oder Kali enthält. Man filtrirt den entstandenen Niederschlag ab oder trennt ihn noch besser durch Abgiessen, wäscht ihn mit Alkohol aus, trocknet bei 100°, bringt ihn in ein trocknes Glaskölbchen und erhitzt über freier Flamme; enthält er Platinsalmiak, so bekommt man im Röhrchen ein mikrokrystallinisches Sublimat von Salmiak, welches sich mit der Flamme leicht an der Wandung des Röhrchens weiter aufwärts treiben lässt; das Sublimat erweist, dass das Wasserextract des Steines oder Harnsedimentes Ammoniaksalz enthält.

2) Die in 1. bei der Behandlung des Pulvers mit heissem Wasser ungelöst gebliebenen Substanzen werden in ein Becherglas gespült und mit verdünnter Salzsäure übergossen; Aufbrausen hierbei zeigt die Anwesenheit von Kohlensäure an. Man lässt kurze Zeit stehen, filtrirt und wäscht mit Wasser aus.

Die Lösung kann enthalten: Kalk, Magnesia, Eisen, Phosphorsäure, Oxalsäure, Ammoniak, Cystin, Spuren von Schleim und Albuminstoffe. Man theilt diese Flüssigkeit in zwei ungleiche Theile.

3) Den kleineren Theil der in 2. erhaltenen salzsauren Lösung concentrirt man möglichst im Wasserbade, bringt die concentrirte Lösung in ein Probirglas, filtrirt, wenn die Flüssigkeit trübe ist, fügt zum klaren Filtrate ein paar Tropfen Platinchlorid und lässt einige Stunden stehen. Ist Ammoniak zugegen, so wird sich sogleich oder nach kurzem Stehen ein gelber krystallinischer Niederschlag von Ammoniumplatinchlorid gebildet haben, den man wie oben in 2. nach Waschen mit Alkohol und Trocknen im Glaskölbchen trocken erhitzt und auf Ammoniakgehalt prüft.

4) Den anderen grösseren Theil der in 2. erhaltenen salzsauren Lösung versetzt man mit Ammoniak bis zur stark alkalischen Reaction und lässt bedeckt kurze Zeit stehen. Ein entstandener Niederschlag kann enthalten Phosphorsäure, Oxalsäure, Magnesia, Kalk, Eisenoxyd, die Lösung dagegen kann enthalten Kalk, Magnesia, Cystin. Man filtrirt die Lösung schnell unter möglichstem Abschluss der atmosphärischen Kohlensäure, wäscht mit ausgekochtem Wasser und etwas Ammoniak aus.

5) Ein Theil der in 4. erhaltenen Lösung wird mit oxalsaurem Ammoniak auf Kalk (der im Harnsteine an Kohlensäure gebunden war) und nach Abfiltriren des oxalsauren Kalks mit Natriumphosphat auf Magnesia geprüft.

6) Der in 4. erhaltene Niederschlag wird mittelst der Spritzflasche mit Wasser in ein Becherglas gespült und Essigsäure im Ueberschuss hinzugefügt; löst sich ein Theil des Niederschlags nicht in Essigsäure,

so kann derselbe aus phosphorsaurem Eisenoxyd oder oxalsaurem Kalke bestehen.

7) Der in Essigsäure unlösliche Theil des Niederschlags in 6. wird abfiltrirt, mit Wasser ausgewaschen, dann in ein Porcellantiegelchen gespült, im Wasserbade zur Trockne gebracht, der Rückstand geglüht und nach dem Erkalten mit Essigsäure übergossen. Löst er sich ganz oder theilweise in Essigsäure unter Aufbrausen und giebt die nöthigenfalls filtrirte essigsaure Lösung mit oxalsaurem Ammoniak einen weissen Niederschlag, so war im untersuchten Steine oder Sedimente oxalsaurer Kalk enthalten. Den durch Essigsäure nicht gelösten Glührückstand löst man in ein wenig Salzsäure, verdünnt mit Wasser und prüft mit Ferrocyankalium auf Eisenoxyd; entsteht ein blauer Niederschlag, so enthält der untersuchte Harnniederschlag phosphorsaures Eisenoxyd.

8) Die in 6. erhaltene essigsaure Lösung wird mit oxalsaurem Ammoniak auf Kalk geprüft, entsteht ein Niederschlag, so wird der Kalk durch weiteren Zusatz von oxalsaurem Ammoniak völlig ausgefällt, die Flüssigkeit mit dem Niederschlage erwärmt, filtrirt, das Filtrat mit Ammoniak wieder alkalisch gemacht einige Stunden stehen gelassen. Hat sich ein Niederschlag bei Zusatz des oxalsauren Ammoniak gebildet, so enthielt der Harnstein phosphorsauren Kalk, war nach dem Abfiltriren des Kalkniederschlags beim Zusatz des Ammoniak ein krystallinischer Niederschlag entstanden, so ist dadurch phosphorsaure Magnesia in dem untersuchten Harnsteine, Gries u. s. w. nachgewiesen.

9) Die in 2. von Salzsäure nicht gelösten Stoffe können nur Harnsäure, Xanthin, Schleim, Kieselsäure und Detritus von organisirten Körpern als z. B. Epithelzellen und andere zufällige Einschlüsse der Harnsteine sein. Harnsäure und Xanthin werden durch Aetzammoniak von einander getrennt, das Ungelöste prüft man mit Murexidprobe auf Harnsäure, die ammoniakalische Lösung verdunstet man und prüft den Rückstand nach § 82 auf Xanthin. Beim Veraschen des durch Ammoniak nicht gelösten Rückstandes erhält man die Kieselsäure.

Ist das in 1. dargestellte Wasserextract reich an Harnsäure, so enthält das untersuchte Sediment, Gries oder Stein viel harnsaures Alkalisalz. Die freie Harnsäure löst sich viel schwerer in heissem Wasser als ihre Alkalisalze. Der Kalk des Salzsäureextractes in 6. ist im Steine als kohlensaures Salz enthalten, die in 9. erhaltenen Niederschläge geben das Vorhandensein von phosphorsauren Erden an, ohne dass dabei entschieden würde, ob die Magnesia als phosphorsaure Magnesia-Ammoniak oder blos als phosphorsaure Magnesia im Steine enthalten ist; hat sich aber in 4. Ammoniak gefunden, so kann man annehmen, dass das Ammoniak-Magnesiadoppelsalz im untersuchten Steine enthalten ist.

Kleine Concretionen in der Substanz der Niere, besonders in den Spitzen der Pyramiden, in den kleinen Gefässen und disseminirt in den Schleimhäuten u. s. w. werden mikroskopisch (vergl. vorigen Paragraphen) auf ihr Verhalten gegen Essigsäure, Salzsäure, Aetznatron, Ammoniak, schwache Jodlösung und Schwefelsäure nebst Jodlösung geprüft. Die in den Spitzen der Pyramiden so häufigen Infarcte phosphorsaurer Erden lösen sich in Essigsäure sehr langsam, viel schneller in Salzsäure unter Hinterlassung von etwas meist unregelmässig geformter organischer Substanz. Harnsaure Salze scheinen sich in Säuren zunächst meist völlig zu lösen, geben aber dann beim Stehen Krystalle von Harnsäure (Bestätigung durch Murexidprobe, Löslichkeit in Natron, Unlöslichkeit in Ammoniak); phosphorsaure Erden lösen sich nicht in Natron oder Ammoniak, dagegen lösen sich abgelagerte Farbstoffe in diesen Flüssigkeiten.

Quantitative Bestimmung der einzelnen in Harnsedimenten und Concretionen enthaltenen Bestandtheile.

259. 1) Von dem möglichst fein pulverisirten Steine, Gries u. s. w. wägt man, wenn hinlängliches Material zu Gebote steht, 1—2 gr ab, trocknet dasselbe zunächst bei 100° im Luftbade oder besser nach der Methode, welche Neubauer zum Trocknen der Harnrückstände angegeben hat (vergl. § 220), weil beim Trocknen des Steinpulvers aus etwa vorhandenen Magnesia-Ammoniak-Phosphaten Ammoniak entweichen kann. Nach dem Trocknen wägt man wieder.

Die Analyse wird dann im Ganzen nach demselben Gange, der im vorigen Paragraphen beschrieben ist, ausgeführt, nur sind Kohlensäure- und Ammoniak-Bestimmung mit besonderen Portionen des Steinpulvers auszuführen.

Die quantitative Analyse dieser Concretionen würde sehr mühsam sein, wenn wirklich alle verschiedenen Stoffe, auf welche im vorigen Paragraphen Rücksicht genommen ist, neben einander in einem Concremente jemals vorkämen, dies scheint aber nie der Fall zu sein und die Analyse vereinfacht sich daher bedeutend. Schwefelsaurer Kalk, Tyrosin, Xanthin, Cystin kommen in Sedimenten und Steinen so selten vor und gewöhnlich so frei von anderen Beimengungen, dass auf ihre Bestimmung im Folgenden nicht Rücksicht zu nehmen war.

2) Das in 1. erhaltene getrocknete Pulver wird in heisses Wasser eingetragen, einige Zeit im Kochen erhalten, heiss filtrirt und mit heissem Wasser gut ausgewaschen. Das Filtrat wird in einer Porcellanschale im Wasserbade concentrirt, dann mit Salzsäure stark sauer gemacht und nach 12stündigem Stehen die ausgeschiedene Harnsäure au gewogenem Filter gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen, Filter und Harnsäure bei 120° getrocknet und nach Erkalten über Schwefelsäure gewogen. Die von der Harnsäure abfiltrirte Flüssigkeit wird abermals durch Abdampfen sehr concentrirt, in ein Becherglas gebracht,

mit Aetzammoniak stark alkalisch gemacht und nach einigen Stunden Stehen die phosphorsaure Ammoniak-Magnesia auf einem kleinen Filter gesammelt, mit verdünntem Aetzammoniak gewaschen, getrocknet, geglüht, gewogen; vergl. Aschenanalyse §§ 206 und 209. Die abfiltrirte Flüssigkeit wird in einer Schale concentrirt, dann in ein gewogenes Tiegelchen gebracht, völlig zur Trockne verdunstet, geglüht bis zur völligen Verjagung des Chlorammonium, nach dem Erkalten gewogen.

3) Die von kochendem Wasser nicht gelösten Bestandtheile des Steins werden im Becherglase mit verdünnter Salzsäure behandelt und 12 Stunden stehen gelassen. Die ausgeschiedene Harnsäure wird auf gewogenem Filter gesammelt, mit kaltem Wasser gewaschen, bei 120° getrocknet, nach dem Erkalten über Schwefelsäure gewogen, dann verascht und nach dem Erkalten die Asche gewogen.

4) Die Analyse der salzsauren Lösung, welche in 3. erhalten wird, führt man auf dieselbe Weise aus, wie es in den §§ 204 und 209—215 beschrieben ist. Oxalsauren Kalk und phosphorsaures Eisenoxyd wägt man nach dem Glühen als kohlensauren Kalk + phosphorsaures Eisenoxyd und es ist dabei nöthig durch etwas kohlensaures Ammoniak die beim Glühen ausgetriebene Kohlensäure zu restituiren, nochmals zum schwachen Rothglühen zu erhitzen, dann erkalten zu lassen und zu wägen. Man löst dann den kohlensauren Kalk in Essigsäure, filtrirt durch ein kleines Filter, wäscht mit etwas Wasser aus, trocknet und glüht das Filter mit dem phosphorsauren Eisenoxyd und wägt den Glührückstand nach dem Erkalten. Ist kein Eisenoxydsalz zugegen, so kann man den auf gewogenem Filter gesammelten oxalsauren Kalk direct nach dem Trocknen bei 100° und Erkalten über Schwefelsäure wägen.

5) In einer besonderen Portion des Concrementes bestimmt man den Kohlensäuregehalt nach der in § 215 beschriebenen Methode.

6) Zur Bestimmung des Ammoniak wägt man eine dritte Portion des lufttrocknen Steinpulvers ab, wenn seine Betheiligung an der Zusammensetzung des Steins durch die qualitative Analyse ermittelt ist, löst die gewogene Quantität in nicht zu viel verdünnter Salzsäure, lässt, wenn Harnsäure zugegen ist, 12 Stunden stehen, filtrirt, versetzt das Filtrat mit Alkohol, fällt mit Platinchlorid, lässt wieder etwa 12 Stunden bedeckt stehen, sammelt den ausgeschiedenen Niederschlag auf einem kleinen gewogenen Filter, wäscht mit Alkohol aus, trocknet Filter und Niederschlag bei 100° und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Hatte das untersuchte Harnsediment oder der Blasenstein Kaligehalt neben Ammoniak bei der qualitativen Untersuchung ergeben, so ist eine vierte Portion des Steinpulvers durch Glühen von organischen

Stoffen und Ammoniaksalzen zu befreien, die noch kohlehaltende Asche in etwas verdünnter Salzsäure zu lösen, zu filtriren, auszuwaschen und in dem Filtrate nach seinem Verdampfen auf ein kleines Volumen die Fällung des Kali durch Platinchlorid, Sammeln des Platinniederschlags auf kleinem Filter, Waschen mit Alkohol u. s. w. vorzunehmen, so wie es oben für die Fällung des Ammoniak angegeben ist. Das Gewicht des Kaliumplatinchlorid von dem Gewicht des Ammonium- + Kaliumplatinchlorid subtrahirt, giebt dann das Ammoniumplatinchlorid, dessen Ammoniakgehalt die Tabelle II. im Anhange ergiebt.

---

3. Untersuchung seröser Flüssigkeiten als Blutserum, Transsudate, Cystenflüssigkeiten, Synovia u. s. w.

Allgemeines.

260. Das Blutplasma, Serum und die verschiedenen Transsudate, welche aus dem Blutplasma durch Filtration hervorgegangen, wegen verschiedener Beimischungen durch die Zellenthätigkeit der Organe, in denen sie sich befinden, sowie durch Blutbeimengung und die Veränderungen, die sie selbst auch ohne jede Beimengung mit der Zeit erfahren, manche Verschiedenheit in der Zusammensetzung zeigen können, bieten im Allgemeinen trotz aller dieser secundären die Transsudate treffenden Einflüsse eine solche Uebereinstimmung in der Zusammensetzung und in den Momenten, welche bestimmend auf die analytischen Methoden einwirken, dass sie hinsichtlich des Ganges der chemischen Untersuchungen keine gesonderte Betrachtung erfordern.

Alle diese Flüssigkeiten enthalten Albumin, und es ist keine hierher gehörige Flüssigkeit bekannt, welche nicht wenigstens zwei verschiedene Albuminstoffe in sich vereinigte. Während sie qualitativ in diesem Gesichtspunkte übereinstimmen, zeigen sich bedeutende Unterschiede hinsichtlich des Gehaltes an Albuminstoffen, da der letztere von 8 pCt. bis unter 0,1 pCt. variirt.

Die Reaction dieser Flüssigkeiten ist mit seltenen Ausnahmen eine schwach alkalische, die Consistenz meist eine dünnflüssige; oft bildet sich jedoch durch Fibrinabscheidung gallertige lockere oder festere Gerinnung, auch kann durch einen Gehalt an Mucin oder Metalbumin eine sehr zähe Consistenz bewirkt werden, so dass die Flüssigkeit beim Ausgiessen lange Fäden zieht.

Die Flüssigkeiten, welche hierher gehören, sind häufig ganz klar durchsichtig, zeigen aber fast stets sehr deutliche weissliche Fluorescenz und werden oft durch Beimengung von Blutkörperchen oder

deren Umwandelungsproducte oder durch zellige Elemente wie Eiterkörperchen, Epithelzellen, Fibrinausscheidungen, Cholesterinkrystalle, moleculare Fettbeimengung (im Blutserum während der Digestion, im Diabetes und bei Säufern, selten in Transsudaten) getrübt. Alle derartige Trübungen und Niederschläge mit Ausnahme des molecularen Fetts, einer molecularen Ausscheidung eines Eiweisskörpers, die zuweilen vorkommt, und der Blutkörperchen lassen sich durch Filtration durch Papier entfernen. Abgesehen von defibrinirtem Blute selbst kann man in allen Fällen die Blutkörperchen durch Stehenlassen einen Tag lang und nachheriges Abgiessen von der Flüssigkeit trennen, im defibrinirten Blute gelingt dies oft nur sehr schwer und mangelhaft; Trübung durch moleculares Fett wird durch Schütteln mit Aether wenigstens grösstentheils entfernt, indem sich das Fett im Aether löst; die Klärung gelingt in allen Fällen vollkommen, wenn man mit Aetznatron versetzt, nun mit Aether schüttelt und dann stehen lässt, doch verändert das Natron dabei die Albuminstoffe.

Die Farbe des Blutserum, der Transsudate und Cystenflüssigkeiten ist in allen Fällen, wenn kein Blut beigemengt ist, ein blasseres oder gesättigteres Gelb oder gelbliches Grün; beim Stehen an der Luft trüben sich diese Flüssigkeiten nach einiger Zeit und ihre Farbe wird dabei mehr bläulich; viele Hydroceleflüssigkeiten haben meist von vorn herein eine dunklere grünliche Färbung.

Das spec. Gewicht der hierher gehörigen Flüssigkeiten variirt zwischen 1,030 und 1,005 ungefähr. Man prüft das spec. Gewicht dieser Flüssigkeiten, wenn sie dünnflüssig genug sind und hinreichende Quantität zu Gebote steht, mit dem Aräometer.

Untersuchung der Albuminstoffe in serösen Flüssigkeiten.

261. Enthält die zu untersuchende Flüssigkeit Trübung oder Niederschlag von Fetzen, Flocken u. dergl., so ist sie zunächst mikroskopisch zu prüfen und zu filtriren. Im Niederschlag enthaltene Flocken und Fetzen können nach Schlämmen und Waschen mit Wasser gereinigt und auf Fibrin untersucht werden. Glasiges Aufquellen ohne Lösung in Wasser mit 0,1 pCt. HCl, dann Lösung in wenigen Minuten nach Zusatz von etwas künstlichem Magensaft und anhaltendem Umschütteln ist dem Fibrin eigen.

I. Ist die klar filtrirte Flüssigkeit von schleimiger Consistenz und zieht Fäden beim Austropfen aus einem Gefäss ins andere (Ovarialcystenflüssigkeiten, Synovia-, Ranulainhalt), so ist auf Anwesenheit von Mucin oder Metalbumin zu schliessen.

1) Man versetzt dann eine Probe derselben, nöthigenfalls nach Ver-

dünnen mit Wasser, mit etwas Essigsäure; entsteht hierdurch ein Niederschlag, der durch weiteren Essigsäurezusatz nicht gelöst wird, sondern sich fester zusammenballt, so ist Mucin vorhanden. Das durch Essigsäure abgeschiedene Mucin wird abfiltrirt, mit etwas Essigsäure enthaltendem Wasser gewaschen und nach § 193 die Identität mit Mucin constatirt.

2) Eine andere Probe der Flüssigkeit wird mit dem 3fachen Volumen Alkohol gemischt, 24 Stunden stehen gelassen, dann abfiltrirt, der Niederschlag ausgepresst und in Wasser gut zertheilt, dann filtrirt. Ist Metalbumin zugegen, so geht dies in die wässerige Lösung über und wird aus seinem § 193 beschriebenen Verhalten erkannt.

II. Einen nicht zu kleinen Theil der filtrirten serösen Flüssigkeit sättigt man bei 30° vollständig mit pulverisirter krystallisirter schwefelsaurer Magnesia, filtrirt, wäscht den Niederschlag mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung aus und untersucht sowohl das Filtrat als auch den Niederschlag.

A. Filtrat.

1) Ein Theil des Filtrats wird zum Sieden erhitzt. Flockige Coagulation zeigt das Vorhandensein von Serumalbumin oder Eieralbumin an.

2) In einem andern Theile des Filtrats wird die spec. Drehung bestimmt (vergl. den Anhang, Optische Untersuchungsmethoden) und hierdurch, sowie durch weitere Vergleichung der in § 162 und § 163 angegebenen Eigenschaften ermittelt, ob Serumalbumin oder Eieralbumin zugegen ist.

Mucin sowie Metalbumin gehen in das Filtrat über, wenn sie in der serösen Flüssigkeit enthalten sind. Mucin kann vor der Behandlung mit Magnesiumsulfat durch mässigen Essigsäurezusatz ausgefällt, die Flüssigkeit dann möglichst genau mit Natriumcarbonat neutralisirt, darauf mit Magnesiumsulfat gefällt und im Filtrate nach den Albuminen gesucht werden. Metalbumin ist nicht von den unzersetzten Albuminen abtrennbar. Zur Untersuchung auf Albumosen und Pepton verfährt man nach der Methode der Darstellung, die in §§ 172 bis 178 ausführlich beschrieben ist.

B. Der Magnesiumsulfatniederschlag wird ausgepresst zwischen Filtrirpapier, dann in nicht viel Wasser gelöst.

1) Ein Theil dieser Lösung wird im engen Probirrohr im Wasserbade mit eingesetztem Thermometer langsam erhitzt, wenn flockige Gerinnung erfolgt ist, filtrirt und das Filtrat in gleicher Weise höher erhitzt, bis wieder flockige Gerinnung eingetreten ist, abermals filtrirt, weiter erhitzt u. s. w.

Muskelalbumin gerinnt bei 45—48°, Myosin und Fibri-

nogen bei 55—58 °, Serumglobulin über 70 ° flockig, Vitellin bei noch höherer Temperatur, Casein, Nucleoalbumine und Albuminat selbst beim Sieden nicht; Casein beim Erhitzen im zugeschmolzenen Rohr auf 120 °.

2) Ein anderer Theil der Lösung ebenso wie ein Theil der ursprünglichen serösen Flüssigkeit werden mit etwas frischgelassenem, vom ausgeschiedenen Fibringerinnsel abgepressten Blut versetzt und einige bis 24 Stunden bei 20—30 ° stehen gelassen. Tritt Gerinnung der ganzen Flüssigkeit oder Abscheidung gallertiger Flocken ein von den Eigenschaften des Fibrin (vergl. § 167), so enthielt die Flüssigkeit Fibrinogen.

3) Ein Theil der Lösung wird durch Dialyse vom grössten Theil des Magnesiumsulfats befreit, der abgeschiedene flockige Niederschlag durch ein wenig Chlornatriumlösung gelöst, dann ein Stück klares Steinsalz so in die Lösung gesetzt, dass es über das Flüssigkeitsniveau hervorragt. Fibrinogen, Myosin, Serumglobulin werden bei der Sättigung der Lösung gefällt, Vitellin wird nicht gefällt und giebt Coagulation beim Kochen der Lösung (Serumglobulin wird durch Chlornatrium bei Gegenwart von Albuminen oder Vitellin nicht vollständig gefällt).

4) Endlich wird ein Theil der Lösung, der nicht viel Magnesiumsulfat enthalten darf (nöthigenfalls also nach vorausgegangener Entfernung desselben durch Dialyse), mit Essigsäure stark angesäuert. Entsteht Niederschlag, der sich nach weiterem Essigsäurezusatz nicht leicht löst, so ist Casein (Nucleoalbumin) oder Albuminat vorhanden. Man unterscheidet sie von einander durch die Einwirkung von Lab in ziemlich neutraler Lösung (vergl. § 171).

Die Untersuchung auf Albumosen und Pepton wird in den serösen Flüssigkeiten nach Abscheidung der durch Kochen und Essigsäurezusatz fällbaren Albuminstoffe ebenso ausgeführt wie im Harn vergl. § 250.

Die Farbstoffe in serösen Flüssigkeiten.

262. Die gelbe Farbe des Blutserum und der meisten serösen Flüssigkeiten scheint stets durch einen in Fetten besonders leicht löslichen, durch Alkalien nicht zersetzbaren Stoff hervorgerufen zu werden, der wohl mit dem Lutein identisch ist, vergl. § 155. Pathologisch können Gallenfarbstoffe, Hämoglobin und Hämatin in serösen Flüssigkeiten auftreten. Das Blutplasma vom Pferde enthält nach Hammarsten Gallenfarbstoff auch im normalen Zustande. Ohne Rücksicht auf die Albuminstoffe untersucht man seröse Flüssigkeiten auf Gallenfarbstoff mit Salpetersäure nach den § 152 angegebenen Methoden. Nach

v. Jaksch*) färbt sich gallenfarbstoffhaltiges Blutserum beim Erhitzen auf 78—80° leicht grünlich und nimmt bei wiederholtem Erwärmen auf 50—60° je nach der Menge des Farbstoffs intensive grasgrüne Färbung an. Die Untersuchung auf Hämoglobin und Hämatin ist in § 146 und § 191 ausführlich beschrieben.

Die Ursache der Grünfärbung, welche seröse Transsudate und das Blutserum beim Stehen an der Luft annehmen, ist noch nicht ermittelt.

Die anorganischen Salze, Fette und Extractivstoffe der serösen Flüssigkeiten.

263. Da die serösen Flüssigkeiten stets eiweisshaltig sind, so ist zur Untersuchung der in ihnen enthaltenen anorganischen Salze die Veraschung unvermeidlich, und es gelten daher die in dem Capitel über die Aschen § 200 bis § 215 gegebenen Methoden und Regeln.

Besondere Beachtuug verdient hierbei der Schwefel- und Phosphorsäuregehalt organischer Verbindungen (Albuminstoffe, Taurocholsäure, Lecithin, Nuclein u. s. w.). In serösen Flüssigkeiten ist Lecithin wohl stets neben mehr oder weniger von Eiweisskörpern enthalten; directe Veraschung derselben ohne vorherige Abscheidung der Eiweissstoffe und des Lecithin würde eine Asche ergeben, in welcher der Schwefelgehalt der ersteren theilweise als schwefelsaures Salz und der Phosphorsäuregehalt des Lecithin als phosphorsaures Salz enthalten sein würde. Schwefelsäure sowie Phosphorsäure würden andere Säuren, besonders CO_2 aus ihrer Verbindung während des Glühens austreiben. Zu einer genaueren Uutersuchung der in diesen Flüssigkeiten vorhandenen anorganischen Stoffe ist es am zweckmässigsten, die Flüssigkeiten mit überschüssigem Alkohol zu fällen, durch aschefreies Filter zu filtriren, den Niederschlag erst mit Alkohol, dann mit Wasser heiss auszuwaschen, die alkoholischen Filtrate bei mässiger Wärme auf dem Wasserbade zu verdunsten, den Rückstand mit warmem absoluten Alkohol zu extrahiren und nach dem Verdunsten des filtrirten Extractes das Lecithin in Aether aufzunehmen, der, wenn er wasser- und alkoholfrei ist, anorganische Salze nicht auflöst. Es werden dann die in Aether nicht gelösten Substanzen des Alkoholauszugs zusammen mit den in Wasser gelösten Stoffen getrocknet, verkohlt und schliesslich, nach Extraction der Kohle mit heissem Wasser, verascht. Zur Bestimmung des Sulfats bei Anwesenheit von Taurin oder Taurocholsäure sind die von Aether nicht gelösten Stoffe nicht zu veraschen, sondern direct mit Bariumchlorid und Salzsäure (oder Essigsäure) zu fällen, das Bariumsulfat abzufiltriren, zu glühen

*) Verhandl. des X. Congresses f. innere Medicin 1890.

und zu wägen. Das Eiweiss auf dem Filter wird besonders verascht und die hierbei erhaltenen Phosphate von Calcium, Magnesium und vielleicht auch Eisen gesondert untersucht.

Eine directe Fällung in der eiweisshaltigen Flüssigkeit von Calcium, Phosphorsäure u. s. w. durch Ammoniak, Ammoniumoxalat u. s. w., ist durchaus zu widerrathen, weil man weder der völligen Ausfällung sicher ist noch ein Mitniederreissen von Lecithin unbedingt vermeiden kann; man erhält durchaus unreine Niederschläge. Am Wenigsten ist es zulässig, Blut direct zu veraschen, man findet in solcher Asche, wie es sich oft ereignet hat, gar keine kohlensauren Salze mehr, weil die CO_2 von der Phosphorsäure des Lecithin völlig ausgetrieben wird; auch viel Chlor kann hierbei verloren gehen.

Für den Nachweis und die Untersuchung der Fette, sowohl der in molecularer Zertheilung suspendirten als auch der in den Flüssigkeiten gelösten, sind in den §§ 48 und 49 ausführlich die Methoden beschrieben, die hier Anwendung finden können.

Nachweis nnd Bestimmung von Glucose im Blute. Zum Nachweise und zur Bestimmung des Zuckers im Blute oder anderen serösen Flüssigkeiten sind zunächst die Eiweissstoffe zu entfernen und hierbei ist Kochen nach Ansäuern mit Mineralsäuren zu vermeiden, weil in diesen Flüssigkeiten, jedenfalls im Blute Stoffe sich finden, die wie Glycogen beim Kochen mit sehr verdünnten Mineralsäuren Glucose entstehen lassen.

Zu dieser Abscheidung genügt zwar meist das Erhitzen nach Ansäuern mit Essigsäure und passender Verdünnung mit Wasser. Da jedoch hier leicht ein wenig Albuminstoff in Lösung bleiben kann, hat man verschiedene Salze zu Hülfe genommen, um eine sichere vollständige Ausscheidung der Eiweissstoffe zu erlangen. Cl. Bernard liess das Blut in eine Schale einfliessen, in der sich krystallisirtes Natriumsulfat befand, es wird dann sogleich zum Sieden erhitzt, das verdampfte Wasser ersetzt, abfiltrirt, ausgepresst und die über 35° warme eiweissfreie Lösung zur Titrirung mit Fehling's Lösung verwendet.[1])

Man hat ferner mit Vortheil die bereits in den älteren Auflagen dieses Lehrbuchs zur Abscheidung von Eiweissstoffen empfohlene Mischung von wenig Eisenchlorid und Ueberschuss von Natriumacetat und Kochen der mit Wasser genügend verdünnten Mischung, Abfiltriren, Auspressen und Auswaschen mit Wasser benutzt.[2])

---

1) Barral, Sur le sucre du sang. Paris 1890.
Röhmann, Centralbl. f. Physiologie Bd. 4 No. 1.

2) F. Schenk, Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 46 u. 47.
Seegen, Centralbl. f. Physiol. Bd. 4 No. 8.

Von Abeles ist vor Kurzem die Verwendung von essigsaurem Zink und Alkohol besonders zweckmässig gefunden.*) Man lässt nach seiner Vorschrift in einem Becherglase zu 50 CC. absoluten Alkohol und 2,5 gr Zinkacetat 50 CC. Blut fliessen, mischt schnell das Ganze, filtrirt, wenn der Niederschlag gleichmässig schwarz-graue Farbe angenommen hat, durch ein mit Alkohol angefeuchtetes Filter, wäscht mit 90—95 procent. Alkohol nach, bringt den Rückstand auf ein Stück Leinwand und presst mit der Handpresse scharf aus. Der aus der Presse genommene Rückstand wird mit Alkohol in der Reibschale zerrieben, auf ein neues Papierfilter gebracht, filtrirt, nachgewaschen mit Alkohol, der Rückstand wieder ausgepresst. Die vereinigten Flüssigkeiten werden mit einer Lösung von Natriumcarbonat in Wasser (1 : 5) so lange versetzt unter Umrühren, bis das Zink als Carbonat ausgefällt ist und die Mischung deutliche alkalische Reaction giebt. Die abfiltrirte Flüssigkeit (bei 50 CC. Blut 250—300 CC. Flüssigkeit) wird mit Essigsäure schwach angesäuert, auf 20—30 CC. eingedampft. Hierbei scheidet sich noch etwas Unlösliches ab. Man spült die Lösung in einen Masscylinder, setzt neuerdings 3—4 Tropfen einer concentrirten wässerigen Lösung von Zinkacetat oder Chlorzink hinzu und macht dann mit Natriumcarbonat alkalisch. Sodann wird bis auf das ursprüngliche Volumen aufgefüllt, durch trockenes Filter filtrirt und das Filtrat mit Fehling's Lösung titrirt.

Untersuchung auf Harnstoff. Eine allen Anforderungen genügende Methode zum Nachweis und zur quantitativen Bestimmung von Harnstoff in Blut und serösen Flüssigkeiten ist noch nicht gefunden, so viele Versuche auch nach dieser Richtung gemacht sind. Am Meisten zu empfehlen ist das § 77 ausführlich beschriebene Verfahren.

Spuren von Harnstoff finden sich in diesen Flüssigkeiten im normalen Zustande, reichlicher ist er in ihnen bei Urämie enthalten.

Um Leucin und Tyrosin in serösen Flüssigkeiten aufzusuchen, sind dieselben möglichst frisch in Arbeit zu nehmen, die Eiweissstoffe durch Kochen der mit Essigsäure angesäuerten und nöthigenfalls mit Wasser passend verdünnten Flüssigkeit (oder durch Erhitzen auf dem Wasserbade mit dem 3—4fachen Volumen Alkohol und vollständiges Erkalten vor dem Filtriren) abzuscheiden, das Filtrat (bei Anwendung von Alkohol ist derselbe nach der Filtration durch Abdampfen zu entfernen) mit neutralem, dann mit basischem Bleiacetat mit sorgfältiger Vermeidung eines Ueberschusses dieser Bleisalze zu fällen und weiter nach den Vorschriften von Hlasiwetz und Habermann zu verarbeiten (vergl. § 93 und § 129).

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15 S. 498.

Kreatin und Kreatinin kann man nach der § 97 und § 98 angegebenen Methode aus den serösen Flüssigkeiten isoliren. Das Kreatin erhält man krystallisirt; ist Kreatinin daneben vorhanden, so kann es durch neutrale Chlorzinklösung aus der vom Kreatin abgegossenen Mutterlauge nach den Vorschriften Neubauer's nach § 239 als Chlorzinkkreatinin gefällt werden, doch scheint es vortheilhafter, zunächst nach dem Auskrystallisiren des Kreatin (wenn dies überhaupt erfolgt) die Flüssigkeit mit verdünnter Schwefelsäure zu kochen, nach Hofmeister mit Phosphorwolframsäure das Kreatinin nach dem Erkalten zu fällen und darzustellen. Aus dieser Verbindung isolirt man das Kreatinin nach § 98. Wahrscheinlich enthalten die serösen Flüssigkeiten stets nur Kreatin und dieses hat sich reichlich besonders im Typhus gefunden.

Untersuchung auf Harnsäure in Blut und serösen Flüssigkeiten. Die von Salkowski zur genaueren Bestimmung der Harnsäure im Harne angewendete Methode (vergl. oben § 238) hat nach den Versuchen von v. Schröder*) sich auch besonders gut geeignet zur Gewinnung derselben aus Blut und Organen (Leber) erwiesen. Das Blut wird mit Wasser auf sein 5faches Volumen verdünnt, mit Essigsäure angesäuert und durch Erhitzen coagulirt; das Filtrat wird zur Trockne verdunstet, der Rückstand mit heissem Wasser extrahirt, durch Zusatz von etwas Magnesiumsulfat und Natriumcarbonat ein Niederschlag gebildet, der die Filtration erleichtert. Die Harnsäure wird in der filtrirten Flüssigkeit mit Magnesiamischung (welche an Stelle von Chlorammonium essigsaure Magnesia enthält) und Silbernitrat gefällt, das harnsaure Silber-Magnesium abfiltrirt, ausgewaschen, mit Schwefelwasserstoff zersetzt, dann ohne zu filtriren zur Trockne abgedampft, der Rückstand mit heissem Wasser extrahirt. Der filtrirte Heisswasserauszug lässt beim Verdampfen den Rückstand, der zum Nachweis der Harnsäure (Murexidprobe u. s. w.) direct verwendet werden kann. Zur Bestimmung der Harnsäure wird nach v. Schröder der das Schwefelsilber noch enthaltende Rückstand mit etwas Wasser gekocht, dann ein Paar Tropfen Natronlauge oder Soda zugesetzt, sofort filtrirt und das Filtrat in ein etwas Essigsäure enthaltendes Glas fallen gelassen, um längere Einwirkung des Alkali auf die Harnsäure zu vermeiden. Die essigsaure Lösung wird auf ein kleines Volumen eingedampft und an kühlem Orte zur Krystallisation stehen gelassen. Die auskrystallisirte Harnsäure wird gewaschen, getrocknet, gewogen.

Um Gallensäure in serösen Flüssigkeiten aufzusuchen, kann man

*) W. v. Schröder, in C. Ludwig's Jubiläumschrift 1886.
Abeles, Wien. med. Jahrbücher 1887 S. 479.

nach vorheriger Coagulation der Eiweissstoffe durch Kochen oder durch Alkohol ganz in derselben Weise verfahren, wie es bezüglich dieser Aufgabe für den Harn in § 254 geschildert ist.

Fette Säuren, Milchsäure, Bernsteinsäure sucht man nach den in den §§ 34, 35, 40, 44 bei der Beschreibung dieser Körper und ihrer Darstellungsmethoden gegebenen Vorschriften auf. Cholesterin und Lecithin werden nach den in § 268 gegebenen Vorschriften im Aetherauszuge nachgewiesen.

Zur schnellen Bestimmung der Alkalescenz des frisch entzogenen Blutes ist zuerst von Zuntz,[1]) dann mehr oder weniger modificirt von Lassar,[2]) Landois, Peiper, v. Jaksch, Winternitz[3]) ein Verfahren ausgebildet, welches auch für andere Flüssigkeiten verwendet werden kann. Winternitz benutzt hierzu eine $^1/_{10}$ Normal-Weinsäure, welche zugleich 10 pCt. Natriumsulfat enthält und dadurch die Blutkörperchen ungelöst lässt. Mittelst einer in $^1/_{10}$ CC. getheilten Pipette wird Blut ($^1/_{10}$ CC.) in Uhrgläschen gebracht, welche der Reihe nach aufgestellt 0,1, 0,2, 0,3 u. s. w. von dieser $^1/_{10}$ Normallösung enthalten, schnell umgerührt und mit sehr empfindlichem neutralen Lackmuspapier (glattes geleimtes Papier) dann in den einzelnen Uhrschälchen geprüft, ob alkalische, saure oder neutrale Reaction zu finden ist. Frisch aus der Ader gelassenes Blut verliert sogleich nach dem Herauslassen aus der Ader einen Theil der Alkalescenz, dann noch einen Theil bei Eintritt der Gerinnung, später nicht mehr.

Untersuchung auf Ammoniak in serösen Flüssigkeiten nach E. Salkowski[4]).

264. Zu 20 gr gepulvertem Kochsalz in einem Kolben bringt man 50 CC. Blut oder seröse Flüssigkeit und 100 CC. einer Mischung von 7 Vol. gesättigter Chlornatriumlösung und 1 Vol. Essigsäure (von 1,040 spec. Gewicht und 30 Gewichtsprocente trockne Essigsäure enthaltend) mischt sorgfältig durch Umschütteln, lässt 15 — 20 Minuten stehen, misst das Gesammtvolumen der Mischung, filtrirt durch trocknes Filter. Das Filtrat soll ganz frei von Eiweissstoffen sein. Es werden 50—100 CC. von demselben abgemessen, mit Kalkmilch übersättigt und nach der Methode von Schlösing der Ammoniakgehalt bestimmt (vergl. § 222).

Auch das von Schmiedeberg für den Harn benutzte Verfahren (vergl. § 222) kann für die Untersuchung in serösen Flüssigkeiten wahrscheinlich gute Verwendung finden.

[1]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1867 S. 801.
[2]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 9 S. 44.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 15 S. 505. Hier auch die betreffende Literatur.
[4]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1880. No. 38.

Bestimmung des Gehaltes an festen Stoffen und Wasser in serösen Flüssigkeiten.

265. In ein kleines Porzellanschälchen, welches nebst einem Uhrglase als Deckel dazu gewogen ist, lässt man aus einer Bürette 10—30 CC. der zu untersuchenden Flüssigkeit genau abgemessen einfliessen (oder man wägt die Portion im Schälchen ohne zu messen) und verdampft auf dem Wasserbade zur Trockne. Wenn keine Wasserabgabe mehr zu bemerken ist, erhält man den Rückstand einige Stunden, nöthigenfalls ein paar Tage auf 100° oder (noch besser) man bringt ihn einige Tage in das Vacuum über Schwefelsäure. Sobald der Rückstand hier möglichst getrocknet ist, erhitzt man im Luftbade auf 110—120°, lässt über Schwefelsäure erkalten und wägt; erhitzt dann nochmals auf fast 120° und wägt nach dem Erkalten und wiederholt diese Procedur so lange, bis die letzte Wägung in ihrem Resultate mit der vorletzten übereinstimmt. Die Wägung ergiebt das Gewicht der festen Stoffe für die abgemessene Quantität Flüssigkeit und man berechnet nach diesem Resultat den Gehalt für 100 CC. der untersuchten Flüssigkeit. Vermuthet man im Transsudate u. s. w. Harnstoff oder andere leicht in der Hitze zersetzliche Substanzen, so trocknet man bei einer 110° nicht viel übersteigenden Temperatur, aber um so anhaltender. Will man in dem so erhaltenen Rückstande die Extractivstoffe oder Salze noch bestimmen, so verfährt man nach § 268.

Bestimmung des Gehaltes an Albuminstoffen in serösen Flüssigkeiten.

266. In serösen Flüssigkeiten finden sich mit wenig noch zweifelhaften Ausnahmen stets mehrere durch Kochen coagulirbare Albuminstoffe neben einander; Propepton sowie Pepton sind selten und dann nur in Spuren in ihnen gefunden. Das summarische Gewicht der beim Kochen gerinnenden Albuminstoffe kann man nach § 267 oder neben den übrigen Bestandtheilen derselben nach § 268 bestimmen, für die getrennte Bestimmung der Albumine neben den Globulinen sind die bei der Schilderung der einzelnen Albuminkörper oben angegebenen Trennungsmethoden in Anwendung zu ziehen. In bei Weitem den meisten serösen Flüssigkeiten findet sich neben Serumalbumin nur Serumglobulin, in manchen Transsudaten, z. B. Hydroceleflüssigkeit, auch Fibrinogen. Genaue Bestimmung dieser letztgenannten Substanz ist noch nicht ausführbar, doch erhält man Näherungswerthe, wenn man eine abgemessene, nicht zu kleine Portion der Flüssigkeit, 40—100 CC., mit nicht zu geringer Menge des aus frisch geronnenem Blute ausgepressten, durch Leinwand filtrirten Serum versetzt (ein mässiger Gehalt des letzteren an rothen Blutkörperchen bringt keinen bemerkbaren Nachtheil), 24 Stun-

den bei 20—30° stehen lässt, dann das gebildete Fibrin schlägt, auf einem gewogenen Filter sammelt, zuerst mit 1 procentiger Chlornatriumlösung, dann mit Wasser, endlich mit heissem Alkohol wäscht, bei 120° trocknet und wägt. Das Gewicht des gebildeten Fibrins kann man als ungefähren Ausdruck des Gewichts vom Fibrinogen in der untersuchten Flüssigkeit gelten lassen. Will man den Zweifel ausschliessen, ob auch das ganze Fibrinogen bei diesem Versuche zur Gerinnung gebracht sei, so stelle man zwei solche Bestimmungen an und setze vom frisch ausgepressten Serum zur einen Portion des Transsudats doppelt so viel, als zur andern. Hat sich dann nach 24 Stunden in beiden Versuchen gleich viel Fibrin abgeschieden, so ist auch sicher das ganze Fibrinogen zu Fibrin umgewandelt.

Zur Bestimmung der Globuline getrennt vom Serumalbumin fügt man zu 20—50 CC. der serösen Flüssigkeit die gleiche bis doppelte Quantität gesättigter wässeriger Lösung von Magnesiumsulfat, erwärmt auf 30° und trägt gepulvertes Magnesiumsulfat in die Mischung, bis bei dieser Temperatur nichts mehr davon gelöst wird, filtrirt und wäscht den Niederschlag mehrmals mit gesättigter Lösung von Magnesiumsulfat. Die abfiltrirte Flüssigkeit mit der ungefähr gleichen Menge Wasser versetzt wird zum Kochen erhitzt, durch einen Tropfen Essigsäure angesäuert, durch gewogenes Filter filtrirt, der Niederschlag mit heissem Wasser anhaltend ausgewaschen, zuletzt mit heissem Alkohol übergossen und nach Ablaufen des Alkohol bei 120° getrocknet und gewogen. Die gewogene Substanz wird verascht und das Gewicht der Asche in Abzug gebracht.

Der Niederschlag der Globuline kann dann mit kaltem Wasser gelöst und diese Lösung ebenso behandelt werden, wie es von der Lösung des Serumalbumin soeben beschrieben ist, nämlich unter Ansäuern durch Kochen coagulirt, der Niederschlag auf dem Filter gewaschen werden u. s. w. Hat man jedoch in besonderer Portion der serösen Flüssigkeit die Summe der Albuminstoffe bestimmt, so ist diese Globulinbestimmung nur als eine Controle anzusehen.

Die Circumpolarisation kann vorläufig zur Bestimmung der Albuminstoffe nicht dienen, weil wegen der verschiedenen Angaben verschiedener Autoren für die Albuminstoffe in serösen Flüssigkeiten gleicher Herkunft und der Verschiedenheit der beim einen oder andern Thier und beim Menschen gefundenen spec. Drehungen der Albumine und Globuline eine gesichertere Feststellung der spec. Drehungen noch erforderlich ist.

Bestimmung des Gehaltes an gerinnbaren Albuminstoffen durch Coagulation und Wägung.

267. 50 bis 100 CC. Wasser werden in einer Porcellanschale zum Kochen erhitzt und in das siedende Wasser eine kleine gemessene oder gewogene Menge des zu untersuchenden Serum u. s. w. (etwas 15 bis 20 CC.) eingetragen. Man erhält darauf noch einige Minuten im Sieden, während man mittelst eines Glasstabes Tröpfchen verdünnter Essigsäure so lange hinzuspritzt, bis die Gerinnung des Albumin grossflockig und die Flüssigkeit klar erscheint, filtrirt dann durch ein gewogenes Filter, wäscht mit Wasser, endlich mit kochendem Alkohol aus, trocknet Filter und Albumin im Luftbade bei 120°, lässt erkalten über Schwefelsäure und wägt. Man wiederholt Trocknen und Wägen, bis das Gewicht constant bleibt, verascht und bringt das Gewicht der Asche in Abzug. Die Resultate fallen leicht ein Wenig zu niedrig aus, indem etwas von den Albuminstoffen in Lösung bleibt; man prüft das Filtrat mit etwas Essigsäure und Ferrocyankalium und wiederholt die Fällung in neuer Portion, wenn hierbei starke Trübung eintritt.

Bestimmung der Albuminstoffe, Extractivstoffe, Fette, Lecithin, Cholesterin und Salze in Blutserum und anderen serösen Flüssigkeiten.

268. Zur quantitativen Bestimmung des Gehaltes seröser Flüssigkeiten an Eiweissstoffen, Fetten, Salzen, Extractivstoffen u. s. w. hat sich das folgende Verfahren am Besten bewährt und wird deshalb, obwohl es unter Umständen (vergl. unten) in mancher Hinsicht abzuändern ist, allein hier ausführlich beschrieben.

Eine Quantität von 20 bis 50 gr oder ebenso viel Cubikcentimeter von der Flüssigkeit wird genau abgemessen oder gewogen, in einem hinreichend geräumigen Becherglase mit dem drei- bis vierfachen Volumen Alkohol und wenigen Tropfen Essigsäure gemischt, einige Stunden kalt stehen gelassen, dann der Niederschlag auf einem gewogenen aschefreien Filter gesammelt und zunächst mit Weingeist, darauf mit heissem absoluten Alkohol, sodann mit Aether und Alkohol, zuletzt mit kochendem Wasser sorgfältig ausgewaschen. Nur Eiweissstoffe und im Wasser unlösliche Salze bleiben bei dieser Behandlung ungelöst zurück, wenn die Flüssigkeit frei von zelligen Elementen und frei von Blutfarbstoff war; auch andere Farbstoffe bleiben zum Theil im Albuminniederschlage, sind aber dann stets nur in sehr geringer Quantität vorhanden. Ein sehr kleiner Theil der Albuminstoffe geht in das weingeistige Extract über und wird später besonders ausgeschieden.

Das Filter mit den Eiweissstoffen wird zur Entfernung des Wassers noch einmal mit etwas Weingeist gewaschen, dann im Luftbade längere

Zeit getrocknet, schliesslich bei 120° über Schwefelsäure erkalten gelassen, gewogen, nochmals getrocknet und gewogen zur Controle darüber, ob kein weiterer Gewichtsverlust beim Trocknen mehr eintritt. Filter und Niederschlag werden dann in einer offenen kleinen Porcellanschale bis zur Entfernung der Kohle geglüht, die zurückbleibende Asche nach Erkalten über Schwefelsäure gewogen.

Durch die obigen vorgeschriebenen Extractionen werden erhalten 1) ein weingeistiger, 2) ein alkoholischer und ätherischer, 3) ein wässeriger Auszug.

Der weingeistige Auszug wird zunächst auf dem Wasserbade bei mässiger Wärme verdunstet, der Rückstand mit dem zweiten Auszuge (dem alkoholischen und ätherischen) übergossen, die Lösung abfiltrirt durch ein kleines gewogenes aschefreies Filter, mit mehreren Portionen absolutem Alkohol, endlich mit einigen Portionen Aether alles Lösliche abfiltrirt und ausgewaschen, der jetzt bleibende Rückstand mit dem oben unter 3. bezeichneten wässerigen Auszug übergossen, durch das gleiche Filter aber in ein anderes Becherglas filtrirt, noch einige Male mit Wasser ausgewaschen und alles Ungelöste auf dem Filterchen gesammelt. Dieser Rest auf dem Filterchen gehört nochzu den Eiweissstoffen und wird wie diese bei 120° getrocknet, gewogen, verascht und die Asche gewogen (am Einfachsten gleich mit der obigen Hauptportion zusammen in dieser Weise behandelt).

Der wässerige Auszug enthält jetzt sämmtliche in Wasser lösliche, in Alkohol oder Aether unlösliche Stoffe der untersuchten serösen Flüssigkeit, er wird in kleiner Porcellanschale auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand bei 110° bis 115° getrocknet, über Schwefelsäure erkalten gelassen, gewogen, bei sehr mässiger Glühhitze verascht, und die Asche gewogen.

Das alkoholische und ätherische Extract, welches also neben Harnstoff, Zucker, Chlornatrium auch Cholesterin, Fette, Lecithin enthalten kann, wird abermals bei mässiger Wärme (nicht über 70°) im Wasserbade, zuletzt am Besten mit der Luftpumpe über Schwefelsäure verdunstet, der Rückstand mit Aether ausgezogen, durch kleines Filter in eine Kochflasche filtrirt, mit mehreren Portionen Aether nachgewaschen, der ungelöst bleibende Rückstand mit Wasser aus dem Becherglase und vom Filter in ein Porcellanschälchen gespült, auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet, im Luftbade bei 100—110° getrocknet, nach Erkalten über Schwefelsäure gewogen, dann bei mässiger Glühhitze verascht und die im Exsiccator erkaltete Asche gewogen.

Von dem (wie eben beschrieben) erhaltenen Aetherauszuge endlich wird zunächst der grösste Theil des Aethers abdestillirt, dann

in ein Becherglas ausgegossen und mit etwas Alkohol und Aether nachgespült, nach Verdunsten des Aethers auf dem Wasserbade bei mässiger Wärme wird der Rückstand über Schwefelsäure mit der Luftpumpe völlig getrocknet und schnell gewogen, dann in Alkohol gelöst, ein Ueberschuss von Aetzkali in absolutem Alkohol gelöst hinzugefügt, diese Mischung auf dem Wasserbade eine Stunde im schwachen Sieden erhalten, endlich der Alkohol verdunstet. Die zurückbleibende Masse von Seifen, Cholesterin, Neurin, glycerinphosphorsaurem Kali, Glycerin, Aetzkali wird in nicht zu wenig Wasser gelöst, diese Lösung in einer Flasche mit der ungefähr gleichen Menge Aether geschüttelt, der Aether nach einiger Zeit abgegossen, die alkalische wässerige Lösung noch einige Male in gleicher Weise mit Portionen Aether behandelt. Von den vereinigten ätherischen Lösungen wird dann der grösste Theil des Aethers abdestillirt, der Rückstand in ein kleines Becherglas ausgeschüttet, mit etwas Alkohol und Aether nachgespült, auf dem Wasserbade zur Trockne verdunstet; es bleibt Cholesterin zurück, verunreinigt mit ein wenig Seife, deren Abtrennung am Besten durch Behandlung der völlig getrockneten Masse mit mehreren sehr kleinen Portionen kalten Alkohol und ein oder 2 Tropfen Salzsäure geschieht, da kalter Alkohol die Seifen leicht löst, Cholesterin dagegen ungelöst lässt. Das rückständige Cholesterin wird bei 80° im Luftbade getrocknet und (nach dem Erkalten im Exsiccator) gewogen, die alkoholische Seifenlösung zur übrigen wässerigen Lösung der Seifen gebracht.

Die wässerige durch Aether von Cholesterin befreite Lösung von Seifen, Aetzkali u. s. w. wird dann mit Ueberschuss von Salpeter versetzt, zur Trockne in einer Silber- oder Platinschale verdunstet, der Rückstand bis zur Entfernung der Kohle und nicht länger geschmolzen, die Schmelze nach dem Erkalten in heissem Wasser gelöst, im Becherglase mit starker reiner Salpetersäure unter guter Bedeckung des Glases stark sauer gemacht, einige Zeit im offenen Glase zur Entfernung der Untersalpetersäure auf dem Wasserbade digerirt, dann mit Lösung von molybdänsaurem Ammoniak in Salpetersäure gefällt, 12 Stunden stehen gelassen. Der darauf abfiltrirte nicht weiter zu waschende Niederschlag von phosphormolybdänsaurem Ammoniak ist in verdünntem Aetzammoniak zu lösen, die Lösung mit klarer ammoniakalischer Magnesialösung zu fällen, 12 Stunden kalt stehen zu lassen, dann der Niederschlag auf kleinem Filter zu sammeln, mit verdünntem Ammoniak sorgfältig zu waschen, zu trocknen, heftig zu glühen bis zur Entfernung der Kohle und (nach Erkaltem im Exsiccator) zu wägen (siehe § 209).

Berechnung und Zusammensetzung der Resultate.

Nach dem beschriebenen Gange ist zunächst das Gewicht der Eiweissstoffe + unlöslicher Salze, dann das Gewicht der letzteren für sich allein bestimmt, durch Abzug des letzteren Gewichtes von ersterem wird also das Gewicht der reinen Eiweissstoffe erhalten, ebenso werden natürlich die Gewichte der in Alkohol unlöslichen und der in Alkohol löslichen Extractivstoffe gefunden. Die Aschen des Wasser- und des Alkoholauszugs zusammen geben das Gewicht der löslichen Salze*). Vom Aetherauszug ist zunächst das Gewicht der Summe der festen Bestandtheile, dann das Gewicht speciell des Cholesterins bestimmt, endlich ist möglichst genau die im Lecithin enthaltene Phosphorsäure als pyrophosphorsaure Magnesia bestimmt. Das gefundene Gewicht der pyrophosphorsauren Magnesia multiplicirt mit der Zahl 7,27 giebt die Quantität Lecithin des Aetherauszugs; zieht man dann die Summe der Gewichte des Cholesterin und Lecithin vom Gewicht des ganzen Aetherauszugsrückstandes ab, so erhält man das Gewicht der Fette, die in diesem Extracte enthalten sind, vorausgesetzt, dass, wie es gewöhnlich der Fall ist, weder freie fette Säuren noch Farbstoffe oder andere in Aether lösliche Stoffe in wesentlicher Quantität vorhanden waren.

Schliesslich sind die sämmtlichen für Eiweissstoffe, Extractivstoffe, Salze u. s. w. gefundenen Werthe für 100 gr oder 100 CC. Flüssigkeit zu berechnen.

Enthält eine seröse Flüssigkeit viel Alkali, so dass gar keine oder sehr unvollkommene Gerinnung beim Kochen derselben eintritt, so ist es zweckmässig, vor dem Zusatz des Weingeist mit Essigsäure zu neutralisiren, obwohl dadurch das Gewicht der in Alkohol löslichen Extractivstoffe um die Differenz der Aequivalentgewichte der Essigsäure und der Kohlensäure zu hoch gefunden werden muss.

Der bisher am Meisten benutzte Gang der Analyse seröser Flüssigkeiten verlangte Abdampfen der Flüssigkeit auf dem Wasserbade, Trocknen und Pulverisiren des Rückstandes und Extraction desselben successive mit Aether, Alkohol, Wasser. Obwohl diese Methode einfacher und zweckmässiger erscheinen kann, bietet sie hinsichtlich des Trocknens, Pulverisirens und Extrahirens derartiger sehr compacter und zäher Rückstände sehr bedeutende Schwierigkeiten, besonders wenn man Blut auf diese Weise behandelt, ausserdem wird dabei das Lecithin grösstentheils zersetzt und unbestimmbar.

Nach der hier gegebenen allgemein anwendbaren Methode können ausser den Transsudaten, Blut sowie Serum auch der grösste Theil der übrigen thierischen Flüssigkeiten auf den Gehalt an Extractivstoffen, Eiweissstoffen, Salzen untersucht werden. Auch Amniosflüssigkeit ist in jeder Hinsicht wie eine

*) Genauer ist es freilich, die ganzen Aschen nach den angegebenen Bestimmungen zu vereinigen, mit Wasser zu kochen, durch aschefreies Filter zu filtriren, den ungelöst gebliebenen Theil mit dem Filterchen zu trocknen, zu glühen und nach Erkalten zu wägen, und sein Gewicht den unlöslichen Salzen zuzurechnen.

andere seröse Flüssigkeit nach den geschilderten Methoden zu behandeln. **Echinococcenflüssigkeit** ist frei von Albuminstoffen, enthält Traubenzucker, Inosit, Bernsteinsäure und viel Chlornatrium.

---

4. Untersuchung des Blutes.

Allgemeines.

269. Das Blut der Wirbelthiere enthält ausser dem Plasma, dessen Untersuchung nach den im vorigen Capitel gegebenen Methoden ausgeführt wird, in den rothen Blutkörperchen einen Bestandtheil, der der chemischen Untersuchung dieser für den thierischen Organismus wichtigsten Flüssigkeit bedeutende Schwierigkeiten in den Weg legt. Die Schwierigkeiten beruhen weniger auf der komplicirten chemischen Zusammensetzung dieser Körperchen als auf der grossen physikalischen und chemischen Veränderlichkeit, welche sie im Ganzen und in ihren chemischen Bestandtheilen zeigen.

Wenn Blut aus einer Ader gelassen wird, so gerinnt es durch Fibrinbildung meist schnell zur gallertigen Masse, welche unter allmäliger Zusammenziehung der Gallert etwas Blutserum als klare gelbe Flüssigkeit austreten lässt. Der Process der Fibrinausscheidung selbst hat nichts für das Blut Charakteristisches, doch zeigt er Variationen, die mit bestimmten pathologischen Vorgängen aufs Engste verknüpft sind, und es ist daher die Untersuchung dieses Vorganges nach § 271 speciell von Wichtigkeit. Eine Isolirung der rothen Blutkörperchen von dem Plasma, oder im defibrinirten Blute vom Serum, ist nur in so weit ausführbar, als es wohl gelingt, die Blutkörperchen entweder sich senken zu lassen und die klare Flüssigkeit abzugiessen oder nach Zusatz verdünnter Salzlösungen zum defibrinirten Blute die Senkung der Blutkörperchen geschehen zu lassen. Im ersteren Falle sind die Blutkörperchen selbst unverändert, aber in ihren Interstitien befindet sich noch sehr viel Blutserum, im zweiten Falle kann man durch Abgiessen der Flüssigkeit von den abgeschiedenen Blutkörperchen, Mengung der letzteren mit einer neuen Quantität verdünnter Salzlösung und noch öfterer Wiederholung dieser Procedur die Stoffe des Serum völlig entfernen, aber es bleibt hier eine nur auf Umwegen bestimmbare Quantität der Waschflüssigkeit in den Zwischenräumen der abgeschiedenen Blutkörperchen und diese selbst zeigen eine Veränderung der Form, welche ohne Zweifel auch mit Veränderung der chemischen Zusammensetzung Hand in Hand geht. Die grosse Weichheit und Verschiebbarkeit der Blutkörperchen und die Elasticität, durch welche sie im Stande sind, wenn auf sie ein Druck von einer Seite ausgeübt wird, eine andere

Gestalt anzunehmen, ohne wesentlichen starren Widerstand zu leisten, nach Aufhören des Druckes aber in ihre frühere Form zurückzukehren, macht sie fähig, durch Capillaren des Körpers hindurchzuschlüpfen, deren Lumen geringeren Durchmesser besitzt als die Blutkörperchen selbst. Dieselben physikalischen Eigenschaften machen es unmöglich, durch Filtration Blutkörperchen und Serum von einander zu trennen. Zwar kann man die Starrheit der Blutkörperchen sehr wesentlich erhöhen durch Salzzusatz zum Blute, aber auch dann ist die Filtration noch eine unvollkommene, ein Theil der Blutkörperchen geht durchs Filter.

Eine weitere Schwierigkeit für die Untersuchung verursacht die Löslichkeit der Blutkörperchen in Wasser. Fällt ein Tröpfchen Wasser in eine selbst grosse Quantität Blut, so wird das ganze Serum roth gefärbt und die einmal zerstörten Blutkörperchen sind unwiederbringlich verloren. Es ergiebt sich hieraus, dass die Farbe eines Blutserum nur beurtheilt werden kann, dass überhaupt eine genügende Untersuchung des Blutes nur dann ausführbar ist, wenn jeder Tropfen Wasser vermieden wird, sobald man eine Trennung der beiden Bestandtheile des Blutes, des Plasma, oder (nach dem Defibriniren) des Serum und der Blutkörperchen bezweckt. Dies bietet aber praktisch einige Schwierigkeit. Fängt man warmes Blut in einem kalten Gefässe auf, so beschlägt die Wandung des Gefässes mit Wassertröpfchen durch die Verdunstung aus dem Blute; um daher schon beim Auffangen des Blutes von Menschen oder warmblütigen Thieren eine Zerstörung einzelner Blutkörperchen zu vermeiden, ist es erforderlich, das Gefäss, in welches das Blut aufgefangen werden soll, vorher auf die Temperatur des Blutes zu erwärmen, und will man das Serum längere Zeit vom Blutfarbstoff frei halten, so ist das Gefäss mit Blut völlig auszufüllen und zu schliessen, da sonst der Theil des Gefässes über der Flüssigkeit sich schneller abkühlt als das Blut und dann doch mit einem Wasserniederschlag, der bald in das Blut hinabrinnt, bedeckt wird.

Die Lösung der Blutkörperchen wird aber nicht allein herbeigeführt durch Wasserzusatz, sondern das Gefrieren und Wiederaufthauen, elektrische Schläge durch das Blut geleitet haben dieselbe Wirkung; auch beim Evacuiren der Gase des Blutes werden die Blutkörperchen zum Theil zerstört, und ist der Inhalt der Blutkörperchen krystallisirbar, so tritt unter diesen Verhältnissen Krystallbildung ein. Das Gefrieren und Wiederaufthauen wirkt wahrscheinlich nur dadurch, dass das krystallinisch sich ausscheidende Wasser beim Aufthauen die Blutkörperchen in seiner Nähe löst, ebenso ist es beim Evacuiren der Gase unmöglich zu vermeiden, dass im leeren Raume verdunstendes Wasser an den Wandungen

in das Blut zurückrinnt und am Orte des Einfliessens Blutkörperchen löst. Die Wirkung der elektrischen Schläge ist vielleicht eine mechanische, wahrscheinlich auch durch Diffusionsströme bedingte.

Chemische Zusammensetzung der rothen Blutkörperchen.

270. Die chemische Zusammensetzung der Blutkörperchen ist nicht sehr complicirt. Sie liefern bei ihrer Zerlegung, wenn sie unter dem Mikroskope kernlos erscheinen (Menschen- und Säugethierblut), Hämoglobin oder Oxyhämoglobin und nur Spuren eines Eiweisskörpers, phosphorsaures Alkali, etwas Cholesterin, Lecithin und keine Fette[1]). Enthalten die Blutkörperchen dagegen Kerne (Vogel-, Amphibien-, Fischblut), so ist das Verhältniss des Hämoglobins zu den Albuminstoffen ein anderes, weil der Hauptbestandtheil der Kerne, Nucleïn, mit den Albuminstoffen vereinigt bleibt; auch Phosphate, Cholesterin und Lecithin sind zugleich vermehrt. Wasser enthalten die Blutkörperchen 2—3 Mal so viel als feste Stoffe, die kernhaltigen Blutkörperchen der Vögel sind relativ wasserärmer.

Wenn man das Blut schlägt, durch ein Tuch colirt und mit dem etwa 10fachen Volumen einer Mischung von 1 Volumen gesättigter Chlornatriumlösung[2]) und 9 Volumen Wasser mischt, darauf einen Tag stehen lässt, so zeigen sich die Blutkörperchen grösstentheils als schlammiger Niederschlag am Boden abgesetzt. Giesst man die Flüssigkeit ab und behandelt den Niederschlag wiederum mit einer auf das 10fache Volumen mit Wasser verdünnten Chlornatriumlösung und lässt einen Tag stehen, so erhält man als Niederschlag die von Blutserum so gut wie ganz befreiten Blutkörperchen. Uebergiesst man diesen Niederschlag mit Wasser ohne viel umzurühren, so löst sich das Hämoglobin und eine gallertige Gerinnung bleibt ungelöst, welche durch Schütteln mit Wasser und Aether besser ausgefällt wird und dann leicht durch Filtration getrennt werden kann. Der so erhaltene Körper ist unlöslich in Wasser, grösstentheils leicht löslich auf Zusatz einer Salzlösung; auch in Wasser, welches 0,1 pCt. reiner Salzsäure enthält, ist er löslich, gehört also zu den Globulinen.

Die kernhaltigen Blutkörperchen der Vögel geben bei Behandlung mit Wasser und Aether reichlichen Niederschlag von Albuminstoffen

---

[1]) Bei der Untersuchung des Blutes verschiedener Säugethiere und Vögel wurde in den Blutkörperchen nur Cholesterin und Lecithin, aber kein Fett nachgewiesen.

[2]) Für die gleiche Behandlung des Blutes von Vögeln, Amphibien, Fischen wählt man wegen der Quellung des Nucleïns der Kerne der Blutkörperchen in NaCl lösung Natriumsulfatlösung gleichen Gehaltes an Salz.

und hauptsächlich Nuclein (vergl. § 174. 3). Durch Behandlung frischer Blutkörperchen mit $^1/_2$—$^3/_4$ procentiger Kochsalzlösung soll man in letztere Lösung übergehend diastatisches Ferment in geringer Menge erhalten.

Hat man die Lösung der Blutkörperchen durch Schütteln mit Wasser und Aether bewirkt, so giebt dann der abgegossene Aetherauszug beim Verdunsten Cholesterin, Lecithin, auch etwas gelben Farbstoff, die nach den in der ersten Abtheilung angegebenen Regeln untersucht werden; eine nicht geringe Quantität von Lecithin bleibt jedoch in der wässerigen Lösung und kann aus derselben nur durch Fällen mit viel warmem Alkohol unter Zersetzung des Blutfarbstoffs erhalten werden.

Das Hämoglobin geht bei der beschriebenen Behandlung mit Wasser meist einfach in Lösung über, die Blutkörperchen vieler Thiere, als Meerschweinchen-, Ratten-, auch Hundeblut u. s. w. liefern jedoch dabei Krystalle von Hämoglobin, wenn nicht sehr viel Wasser zugesetzt war. Die Blutkörperchen haben einen variablen Gehalt an Gasen, besonders an Sauerstoff, da es jedoch nicht im Plane dieser Anleitung liegt, die Untersuchung der Gase im thierischen Körper zu behandeln, sind auch alle den Gasgehalt der Blutkörperchen betreffenden Verhältnisse nicht besprochen.

Alle Untersuchungen des Blutes auf Körper, die nicht den Albuminstoffen zugehören, also auf Zucker, Gallenstoffe, Leucin, Kreatin u. s. w. werden nach den Methoden ausgeführt, welche für seröse Flüssigkeiten in §§ 262 u. 263 angegeben sind; die Gegenwart der Blutkörperchen bietet für diese Untersuchung kein Hinderniss. Zur Untersuchung der Bestandtheile des Blutserum lässt man das Blut gerinnen, giesst nach einiger Zeit das Serum ab und untersucht dies nach den früher beschriebenen Methoden.

Die Gerinnung des Blutes.

271. Wird das Blut von Menschen und Thieren aus der Ader gelassen, so gerinnt es gewöhnlich in wenigen Minuten. Erheblich verlängert wird die Zeit, welche bis zur Gerinnung verstreicht, wenn man das Blut in einem Gefässe auffängt, dessen Wandungen innen mit Vaselin überzogen sind, und ruhig darin stehen lässt. Auch Kühlung mit Eis verzögert die Gerinnung. Das Blut gerinnt schnell bei höherer Temperatur und bei geringem Salzgehalt; durch Zusatz von Salzlösungen, besonders salpetersauren Salzen, auch schwefelsaurer Magnesia wird die Gerinnung erheblich verlangsamt oder bei grösserem Salzzusatz ganz verhindert; sie tritt dann meist ein, wenn man das Gemisch mit Wasser verdünnt, nach Zusatz von viel Magnesiumsulfat geschieht dies nicht.

Reichlicher Gehalt an Kohlensäure und Mangel an Sauerstoff im Blute verlangsamt gleichfalls die Gerinnung.

Zuweilen gerinnt das Blut in den Leichen binnen 12 Stunden nicht, gerinnt aber sowie es aus den Adern gelassen wird; in anderen Fällen gerinnt es aus der Ader gelassen theilweise, kann filtrirt werden, liefert dann nach einiger Zeit wieder eine Gerinnung u. s. w. (Fibrin langsamer Gerinnung), in wieder anderen Fällen gerinnt es gar nicht, doch geschieht dies nur selten. Die Ursachen dieser Verschiedenheiten des Blutes bei verschiedenen Krankheiten sind noch nicht genügend untersucht, im Ganzen kann man jedoch so viel bis jetzt als ausgemacht ansehen:

1) Das Blut gerinnt, alles Uebrige gleich gesetzt, um so schneller, je verdünnter, wässeriger es ist, daher schnelle Gerinnung nach Blutverlusten und bei Hydrämischen.

2) Das Blut gerinnt um so langsamer, je ärmer an Sauerstoff und reicher an Kohlensäure es ist.

Die Gerinnung des Blutes ist ferner um so fester, elastisch zäher, je wasserreicher und je ärmer an Blutkörperchen, rothen und farblosen, das Blut ist. Ein wasserarmes (Cholera), an rothen Blutkörperchen (Plethora) oder farblosen Blutzellen (Leukämie) reiches Blut giebt lockere leicht zerdrückbare Gerinnung.

Mischt man dem Blute ein Wenig Aetzalkali oder hinreichende Quantität Essigsäure zu, ehe es geronnen ist, so tritt keine Gerinnung ein. Durch Quirlen oder Schlagen des Blutes mit einem Stäbchen wird die Gerinnung beschleunigt und das Fibrin scheidet sich in Flocken und elastischen Fasern aus.

Bestimmung des Fibringehaltes im Blute oder Plasma.

272. Zur Bestimmung des Fibringehaltes im Blute benutzt man mit Vortheil ein kleines Becherglas, welches mit einer Kautschukkappe geschlossen ist (Fig. 6). Durch einen kleinen Röhrenansatz in der Mitte des Kautschuküberzuges steckt man den Stiel eines ruderförmigen Fischbeinstäbchens, so dass der untere breite Theil desselben fast den Boden des Becherglases berührt, wenn die Kautschukkappe über dasselbe gezogen ist.

Man wägt den so vorbereiteten und gut getrockneten Apparat, nimmt den Kautschuküberzug ab, fängt eine Portion von 10—40 CC. des zu untersuchenden Blutes darin unmittelbar aus der Ader auf (zur Bestimmung im Plasma hebt man die entsprechende Portion aus dem im Eis stehenden Plasma mit einer Pipette hinein), zieht die Kautschukkappe über, schlägt nun das Blut etwa 10 Minuten lang und wägt nach

dem völligen Erkalten. Man ist auf diese Weise im Stande, das Schlagen des Blutes auszuführen, ohne durch Verdunstung Gewichtsverlust desselben herbeizuführen. Nachdem das Gewicht des Blutes ermittelt ist, hebt man den Kautschuküberzug ab, füllt das Becherglas ein oder mehrmals fast ganz mit Wasser, rührt stark um und lässt das Fibrin sich absetzen, giesst darauf die ziemlich klare Flüssigkeit in ein anderes Becherglas ab, bringt mit einer neuen Portion Wasser, dem einige Tropfen Kochsalzlösung zugesetzt sind, das Fibrin auf ein kleines gewogenes Filter und wäscht mit reinem Wasser so lange aus, bis die ablaufende Flüssigkeit völlig farblos und das Fibrin selbst höchstens hellrosaroth gefärbt erscheint. Mit einer reinen Pincette gelingt es leicht Fibrinfasern, die am Fischbeinstäbchen haften, abzunehmen und dem übrigen auf dem Filter zuzufügen. Schliesslich wäscht man das Fibrin noch einige Male mit siedendem Alkohol, um eingeschlossene Fette, Lecithin, Cholesterin zu lösen und zu entfernen, trocknet dann Filter und Fibrin bei 110 bis 120° im Luftbade und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure.



Fig. 6.

Es ist im Falle, dass eine ganze Analyse des Blutes ausgeführt werden soll, zweckmässig, die abgegossenen und abfiltrirten Flüssigkeiten (jedoch ohne die letzten alkoholischen Filtrate) zu sammeln, da man diese Lösung zur Bestimmung des Hämoglobingehaltes des Blutes mit Vortheil benutzen kann.

Der Zusatz von etwas Chlornatrium zu der zweiten oder dritten Portion des Waschwassers hat den Zweck, das niederfallende Serumglobulin, das grossentheils aus den Blutkörperchen stammt und beim Verdünnen des Blutes mit Wasser gefällt wird, zu lösen. Bei Säugethierblut hat dieser Salzzusatz nur den Vortheil, dass die Flüssigkeiten besser filtrirbar werden; in Vogel-, Amphibien- und Fischblut dagegen ist es zweckmässig, zum Auswaschen des Fibrin nur ein- bis dreiprocentige Glaubersalzlösung zu verwenden, bis das Fibrin fast ganz von Blutkörperchen befreit ist, weil im Wasser die Blutkörperchen sich zwar zum Theil lösen, die Kerne der Blutkörperchen aber sehr schwer durch Decantiren von Fibrin zu trennen sind. Erst zuletzt wendet man auch hier Wasser und endlich heissen Akohol an.

Absolut genaue Resultate liefert die angegebene Bestimmungsmethode des Fibrin nicht, aber immerhin recht brauchbare. Von grossem Belang für ein schnelles Gelingen und genaue Be-

stimmung ist es, dass man so lange wäscht und decantirt, bis die Flüssigkeit über dem Fibrin fast völlig klar bleibt, erst dann bringt man das Fibrin aufs Filter und wäscht mit Wasser weiter. Bringt man das Fibrin zu früh auf das Filter, so filtrirt die Flüssigkeit sehr langsam und es kann Fäulniss vor der Beendigung eintreten. Verfährt man nach diesen Vorschriften, so erhält man gleichmässige und sehr befriedigende Resultate und jede Bestimmung ist in wenigen Stunden bis auf das Trocknen des Fibrins beendet. Die Bedenken, welche hier und da ausgesprochen sind gegen die Zuverlässigkeit der Fibrinbestimmungen, sind ohne Bedeutung, wenn man Papierfilter, nicht leinene Tücher anwendet und die angegebenen Vorschriften befolgt.

Bestimmung des Gehaltes an Oxyhämoglobin im Blute oder in serösen Flüssigkeiten.

273. Der Gehalt an Blutfarbstoff in Blut oder Flüssigkeiten, welche Blutfarbstoff gelöst enthalten, kann ausgeführt werden mit den Spectrophotometern von Vierordt und von Hüfner, — das neue verbesserte Spectrophotometer von Hüfner gewährt für diesen Zweck die grösste Genauigkeit*), — oder durch colorimetrische Vergleichung reiner Lösungen des krystallisirten Blutfarbstoffs in passender Dicke der Schicht und geeignetem Grad der Verdünnung mit diesen Flüssigkeiten. Für diese letztere Vergleichung ist es von besonderem Einfluss auf die Schärfe der Bestimmung, dass die beiden in der Intensität der Färbung zu vergleichenden Flüssigkeiten unmittelbar neben einander gesehen werden. Dies ist erreicht in den beiden Instrumenten, welche im Folgenden für diese Untersuchung als besonders geeignet beschrieben werden.

Die Darstellung mehrfach umkrystallisirten Blutfarbstoffs aus Hunde- oder Pferdeblut bietet an kalten Wintertagen keine Schwierigkeit; concentrirte Lösungen dieser Krystalle, am Besten sogleich mit Kohlenoxyd gesättigt und in Flaschen mit gutem Stopfen eingeschlossen oder in Glasröhrchen eingeschmolzen, halten sich beliebig lange Zeit völlig unverändert. Nachdem der Gehalt einer solchen Lösung an festem Blutfarbstoff durch Abdampfen, Trocknen und Wägen des Rückstandes in einigen Portionen von 15—20 CC. festgestellt ist, werden von dieser Flüssigkeit Portionen zu ungefähr 6 CC. in Glasröhrchen, die an beiden Enden ausgezogen sind, eingeschmolzen, nachdem sie un-

*) Hüfner, Zeitschr. f. physik. Chem. Bd. 3 S. 562.
E. Albrecht, Anleitung z. Gebr. des Hüfner'schen Spectrophotometers, Tübingen 1892.

mittelbar vorher nochmals mit Kohlenoxyd behandelt sind. Ein solches Glasröhrchen liefert mit diesem Inhalte, der unmittelbar vor dem Gebrauche mit gemessenen Mengen Wasser (mit CO geschüttelt) auf einen Gehalt von 0,2 bis 0,3 pCt. Kohlenoxydhämoglobin verdünnt ist, passende Normallösung für zahlreiche Bestimmungen. Die verdünnten Lösungen sind nicht gut haltbar.

Um in Blut den Gehalt an Blutfarbstoff zu bestimmen, wird eine gemessene oder gewogene Quantität desselben mit kohlenoxydhaltigem Wasser verdünnt. Es dienen für diesen Zweck sehr gut kleine mit eingeschliffenen Glasstopfen und einem Fuss versehene, in $^1/_{10}$ CC. getheilte Glasröhrchen von 6—8 CC. Inhalt, die man auf die Wage stellen kann. In solchen Gläschen kann das Blut gewogen, mit gemessenen Mengen Wasser verdünnt und durch langsames Einleiten von CO gas durch ein enges Glasröhrchen mit diesem Gas gesättigt werden. Um Trübungen zu vermeiden oder zu entfernen, wird ein kleines Tröpfchen verdünnter Natronlange zugefügt und nöthigenfalls durch sehr kleines Filter in ein zweites solches Gläschen filtrirt und das Volumen des Filtrats bestimmt. Steht nur sehr wenig Blut aus einer Wunde am Finger u. s. w. zu Gebote, so nimmt man dasselbe mit graduirtem Capillarrohr auf, misst es hierin, bläst es in ein Gläschen der angegebenen Art aus, spült mit Wasser nach und verdünnt mit Wasser zu 2,5 CC., fügt ein Tröpfchen sehr verdünnter Natronlauge zu, leitet CO ein, filtrirt und misst das Volumen des Filtrats. Man kann dann zur colorimetrischen Vergleichung schreiten.

Colorimetrische Apparate.

I. Die Fig. 7a und b und die Durchschnittsskizze dazwischen stellen den einen colorimetrischen Apparat*) dar, die erstere Figur zeigt ihn etwas von der Seite gesehen, die Fig. 7b gerade von vorn. Stellt man das Röhrchen r′ in die verdünnte Normallösung und r in die verdünnte Blutlösung, saugt unter Oeffnung der zugehörigen Quetschhähne zunächst an n, so füllt sich die linke Seite des Apparates mit der Normallösung, saugt man dann an m, so steigt die Blutlösung in die rechtsseitige Abtheilung der Doppelpipette auf. Beide Abtheilungen haben gleiche Dimensionen und eine Dicke der Schicht der Flüssigkeit in beiden Abtheilungen von 5 mm. Auf der einen Seite liegt dieselbe hinter, auf der andern vor einem Glaskörper von 5 mm Dicke. Gerade von vorn betrachtet, werden beide Flüssigkeiten neben einander gesehen, nur getrennt durch eine feine Linie. Das Apparatchen besteht aus 2 Messingrahmen, welche die Glaskörper einschliessen, getrennt von einander durch eine plan-

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 505.

parallel geschliffene und polirte Glasplatte und nach aussen gleichfalls durch solche Glasplatten bedeckt. Die einzelnen Theile werden gehalten und befestigt durch 2 Schrauben und Muttern, welche in der Fig. 7 jederseits am Rahmen sichtbar sind. Zur Beurtheilung der Farbenintensität beider Seiten sieht man durch das Instrument gegen eine durch Tageslicht beleuchtete Fläche von mattem, weissen Papier.

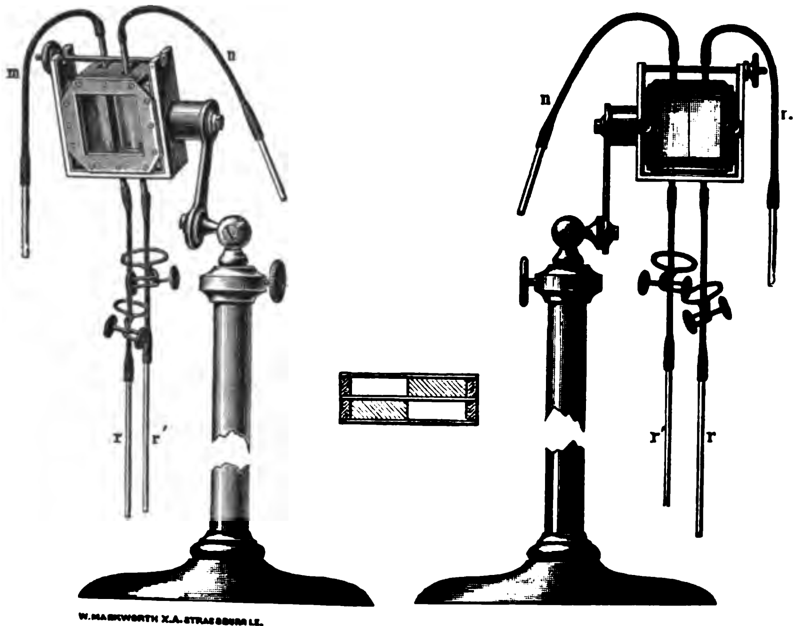


Fig. 7a. Fig. 7b.

Ist nun die Blutlösung dunkler gefärbt als die Normallösung (so soll es sein), so lässt man sie zurückfliessen, fügt aus einer in $^{1}/_{10}$ CC. getheilten Bürette in kleiner gemessener Portion Wasser hinzu, welches vorher in einer Flasche mit CO-Gas geschüttelt ist, rührt mit dem Röhrchen r um, füllt die rechte Seite der Pipette wieder mit der Mischung, lässt sofort zurücklaufen, füllt sie dann wieder (hierbei erhält man gleichförmige Mischung) und vergleicht dann die Farbe mit der der Normallösung. Ist die Lösung noch zu dunkel gefärbt, so lässt man wieder zurücklaufen, fügt CO-haltiges Wasser hinzu, mischt, füllt die Pipette und vergleicht die Färbung. Es wird diese allmälige Verdünnung, Mischung und Farbenvergleichung so lange fortgesetzt, bis gleiche Farbenhelligkeit der Blutlösung und der Normallösung erreicht ist. Dann wird abgelesen, wie viel Wasser zur abgemessenen Blut-

lösung zugesetzt werden musste, um derselben die gleiche Helligkeit zu geben, wie sie die Normallösung zeigt.

Wenn man es vorzieht, die Flüssigkeiten in die Abtheilungen der Doppelpipette aufsteigen zu lassen, ohne anzusaugen, so kann man an Stelle der Röhren r und r′ ungefähr 1 bis 1,5 cm weite, oben offene, unten in enges Rohr ausgezogene Glasröhren mit den Kautschukschläuchen verbinden, dieselben mit der weiten Oeffnung nach oben neben dem Colorimeter befestigen, die Quetschhähne weglassen und die Lösungen direkt in diese Röhren einfüllen, von denen jede mit einer Abtheilung des Colorimeters communicirt. Durch Bewegung dieser Röhren auf- und abwärts kann man nach erneutem Wasserzusatz die Blutlösung gut mischen.

Die Berechnung des Ergebnisses ist so einfach, dass es kaum nöthig scheint, sie zu beschreiben. Bei gleicher Intensität der Färbung enthalten beide Flüssigkeiten im gleichen Volumen gleich viel Blutfarbstoff. Kennt man also das Volumen, zu welchem die gemessene oder gewogene Blutportion verdünnt werden muss, um mit der Normallösung gleiche Färbung zu zeigen, so giebt das Product desselben mit dem Gehalte der verdünnten Normallösung die in dieser Blutportion vorhandene Blutfarbstoffquantität. Ist p das Gewicht der Blutportion, c der Procentgehalt der verdünnten Normallösung, v das Volumen, zu welchem p verdünnt werden muss, um diesen Gehalt zu erlangen, so ist der Procentgehalt des Blutes an Blutfarbstoff $m = \frac{v\,c}{p}$

Steht nur sehr wenig Blut zur Verfügung und ist dasselbe sehr arm an rothen Blutkörperchen, so kann der Fall eintreten, dass die Verdünnung des Blutes bereits zu stark geworden ist und bei der Vergleichung in der Doppelpipette die Blutlösung heller erscheint als die verdünnte Normallösung. In diesem Falle wird eine Portion der letzteren abgemessen, mit kleinen gemessenen Mengen Wasser allmällig weiter verdünnt, bis bei der Vergleichung in der Doppelpipette die Farbenintensität derjenigen des verdünnten Blutes gleich geworden ist. Aus der stattgefundenen Verdünnung berechnet man dann den Procentgehalt dieser weiter verdünnten Normallösung an Kohlenoxydhämoglobin und dann in der obigen Weise den Gehalt des Blutes an diesem Farbstoff.

II. Colorimeter mit Albrecht'schem Glaswürfel. Die unmittelbare Zusammenstellung der gleich belichteten Bilder zweier Farbstofflösungen erreicht man sehr vollkommen durch die in den folgenden Holzschnitten dargestellte Combination einer Doppelpipette (Fig. 8. 3.) mit dem Albrecht'schen Glaswürfel (Fig. 8. 2.), Collimator

und Fernrohr (Fig. 8. 1. giebt den Verticaldurchschnitt des ganzen Instruments in $^1/_4$ natürlicher Grösse, Fig. 8. 2. und 8. 3. in halber Grösse).

Das Fernrohr *F* und das Collimatorrohr *C* sind in messingner Hülse so verschraubt, dass sie ein gerades Rohr darstellen; dies Rohr ist auf einem starken gusseisernen Dreifuss montirt und um eine horizontale und eine verticale Axe drehbar. Am Collimatorrohr ist in einem geschwärzten messingnen Gehäuse ein auf 4 Seiten geschliffener Glaswürfel *G* (Fig 8. 2.) so befestigt, dass 2 diagonal gegenüberliegende Kanten desselben in der optischen Axe des Fernrohrs stehen, und dass die dem Fernrohr zugekehrte Kante zugleich in der Brennweite der Collimatorlinse liegt.

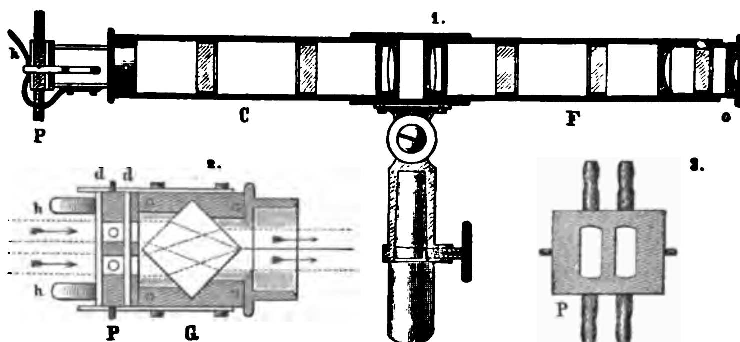


Fig. 8.

Die Doppelpipette, welche auf der Abbildung mit *P* bezeichnet ist, ist aus einem rechteckigen 5 mm dicken Messingstück hergestellt. Die eingebohrten Kammern sind durch einen 3,5 mm breiten Steg von einander getrennt; in jede dieser Kammern münden 2 Schlauchansätze (Fig. 8. 3.). Das Gehäuse des Flintglaswürfels *G* ist nach vorn mit einer genau eben geschliffenen Flansche abgeschlossen, in welcher sich 2 den Kammern der Doppelpipette entsprechende Oeffnungen befinden. Vor dieser Flansche wird die mit 2 planparallelen Gläsern *dd* (Fig. 8. 2.) bedeckte Pipette mit den Federn *hh* angeklemmt und zugleich durch die am Würfelgehäuse angeschraubten messingnen Lamellen derart fixirt, dass sich die Kammern der Doppelpipette und die Oeffnungen in der Flansche genau decken. Das Licht, welches durch die beiden 3,5 mm von einander getrennten Kammern der Pipette einfällt, wird von dem Glaswürfel *G*, wie aus Fig. 8. 2. ersichtlich, so gebrochen, dass die Kante des Glaswürfels die Grenzen der beiden Kammern bildet. Das Ocular *o* des Fernrohrs *F* ist mit einer Blendung mit quadratischer Oeffnung abgeblendet. Wird nun das Fernrohr scharf auf die Kante des Würfels

eingestellt, so erscheint das Quadrat der Ocularblendung durch eine feine Linie in 2 oblonge Hälften getheilt. Das Fernrohr kehrt die vom Glaswürfel gewendeten Bilder der Pipettenkammern wieder um und es entspricht nun die rechte Hälfte des Ocularquadrats dem Lichte, welches durch die rechte Kammer der Pipette eingefallen ist, und die linke Hälfte dem Lichte der linken Kammer.

Da die beiden Hälften des Ocularquadrats, wie bereits bemerkt, scharf zusammenstossen, so ist eine ausserordentlich genaue Vergleichung der Intensität des Lichtes möglich, welches durch die beiden mit Farbstofflösungen gefüllten Kammern der Doppelpipette eingefallen ist.

Nach geschehenem Gebrauch wird die Pipette vom Apparat entfernt, zerlegt und gereinigt. Sie soll dann wieder vor den Apparat geklemmt werden, damit der Glaswürfel vor Staub geschützt bleibt.

Dieser Apparat ist ausgeführt und wird angefertigt vom Universitätsmechanikus Albrecht in Tübingen.

Die Benutzung der Doppelpipette an diesem Apparat geschieht ebenso wie es oben bezüglich des ersten geschildert ist, nur wird die Concentration der Normallösung hier zweckmässig etwas stärker, nämlich zu 0,25—0,32 gr Kohlenoxydhämoglobin in 100 CC. Lösung gewählt wegen der Vergrösserung durch die Linsencombinationen. Die Belichtung kann man in verschiedener Weise herstellen, doch dient auch bei diesem lichtstarken Apparate am Einfachsten das von einer ebenen matten weissen Papierfläche reflectirte Tageslicht.

Bestimmung des Gewichtes der rothen Blutkörperchen in einer bestimmten Quantität Blut.

I. Bestimmung der nassen Blutkörperchen durch den Fibringehalt von Blut und Plasma.

274. Obwohl auch die Blutkörperchen der Säugethiere eine Spur Fibrin bei ihrer Behandlung mit Wasser bilden, so ist diese Spur doch eine so geringe, dass man sie ohne wesentliche Ungenauigkeit vernachlässigen kann. Sieht man aber von derselben ab, so ist das Blut nur im Plasma fibrinhaltig (oder besser fibrinbildend). Bestimmt man nun in einer gewogenen Quantität Blut nach § 272 das Fibrin und ebenso in einer gewogenen Quantität Plasma desselben Blutes, so ist aus dem Fibringehalte dieser beiden Flüssigkeiten leicht zu berechnen, wie viel Plasma das Blut enthält. Zieht man dann vom Gewichte des ganzen Blutes das Gewicht seines Plasma ab, so bleibt als Rest das Gewicht der rothen Blutkörperchen und der farblosen Blutzellen. Ob man die letzteren wird vernachlässigen dürfen ohne wesentlichen Fehler für die

Zusammensetzung des Blutes, hängt natürlich von dieser jedesmaligen Zusammensetzung selbst ab; jedenfalls kann das Mikroskop hierüber entscheiden und in den meisten Fällen (ausgenommen Milzvenenblut, leukämisches und pyämisches Blut) wird der dadurch entstehende Fehler verschwindend klein ausfallen. Diese Methode ist aber nur für Blut anwendbar, dessen Fibrin langsam gerinnt und dessen Blutkörperchen sich schnell senken; also Pferdeblut oder Blut von Menschen, welche an Entzündungskrankheiten leiden, würde sich für diese Analyse eignen.

Man verfährt bei dieser Untersuchung zweckmässig in folgender Weise: Man fängt eine grössere Portion Blut in einem cylindrischen Gefässe auf, welches in Eis steht, ausserdem eine zweite Portion von etwa 30—50 CC. in einem Apparatchen zur Fibrinbestimmung (vergl. § 272), schlägt letzteres darin und bestimmt nach den dort gegebenen Regeln den Fibringehalt des Blutes. Von der ersteren grösseren Blutportion hebt man, wenn die Blutkörperchen sich hinreichend gesenkt haben, 30—50 CC. ungeronnenes Plasma mit einer kalten Pipette vorsichtig ab, lässt sie in einen zweiten Fibrinapparat fliessen, schliesst mit der Kautschukkappe, schlägt das Plasma und bestimmt gleichfalls nach § 272 darin den Fibringehalt. Eine einfache Proportion lässt dann den Plasma- und Blutkörperchengehalt des Blutes berechnen, wie oben bereits auseinandergesetzt ist.

Ein wesentlicher Uebelstand für diese Bestimmungsmethode wird dadurch hervorgerufen, dass wegen des geringen Gehaltes an Fibrin in Blut und Plasma die Fehler in der Bestimmung des Fibrin bei der Berechnung des Plasma verhundertfacht werden.

II. Bestimmung des Gehaltes des Blutes an Blutkörperchen durch den Gehalt der letzteren an Oxyhämoglobin und Albuminstoffen.

275. Die rothen Blutkörperchen enthalten ausser Wasser, Cholesterin, Lecithin und Salzen Oxyhämoglobin und Albuminstoffe in Verhältnissen, die bei verschiedenen Thieren bedeutende Verschiedenheiten zeigen. Sie lösen sich nicht in Flüssigkeiten, die über $1^1/_2$ pCt. Chlornatrium enthalten, lösen sich dagegen in Wasser zu einer trüben Flüssigkeit, die sich auf Zusatz von einigen Tropfen Chlornatriumlösung allmälig klärt ohne Bildung eines Niederschlags. Da nun verdünnte Chlornatriumlösung den Blutkörperchen weder Oxyhämoglobin noch Albuminstoffe entzieht, das Blutserum sich dagegen klar mit der Kochsalzlösung mischt, so gewährt sie ein vortreffliches Mittel zur Trennung der Blutkörperchen vom Serum, wenn man defibrinirtes Blut mit einem grossen Ueberschuss der Kochsalzlösung mischt, dann im ruhigen Stehen die Blutkörperchen sich senken lässt, die Flüssigkeit klar vom Niederschlage

abgiesst. . Wenn auch Salze, Extractivstoffe und Wasser zum Theil aus den Blutkörperchen in die Salzlösung sich diffundiren mögen, bleiben doch Oxyhämoglobin und Albuminstoffe darin unverändert, und hierauf kommt es allein an. Wenn man dann die mehrfach mit Kochsalzlösung gewaschenen Blutkörperchen einer gewogenen Blutportion von der letzten Flüssigkeit durch Abgiessen getrennt, mit überschüssigem Weingeist fällt, den Niederschlag auf ein gewogenes Filter bringt, mit warmem absoluten Alkohol, dann mit Aether, endlich mit warmem Wasser auszieht, dann trocknet, wägt, verascht und die Asche mit Ausnahme des Eisenoxyds von dem Gewichte der trocknen Albuminstoffe + Oxyhämoglobin abzieht, so erhält man als Rest das Gewicht der Albuminstoffe und des Oxyhämoglobin der Blutkörperchen einer bestimmten Portion Blut. Da man ferner in einer anderen Portion Blut den Gehalt an Albuminstoffen + Oxyhämoglobin des ganzen Blutes bestimmen kann, so erhält man durch Subtraction der Albuminstoffe + Oxyhämoglobin der Blutkörperchen von dem Gewicht dieser Stoffe im ganzen Blute das Gewicht derjenigen Albuminstoffe, die dem Blutplasma zugehören. Ist endlich eine Bestimmung des Fibringehaltes ausgeführt und des Gehaltes an Albuminstoffen im Blutserum, so kann aus dem Gehalte an Serumalbuminstoffen im Blute der Gehalt des Blutes an Serum und (mit Berücksichtigung des Fibrin) an Plasma berechnet werden. Zieht man das Gewicht des Plasma vom Gewichte des ganzen Blutes ab, so bleiben als Rest die nassen Blutkörperchen.

Zur Ausführung dieser Bestimmung fängt man am Besten vier einzelne Portionen Blut auf.

Die erste Portion von etwa 20—50 CC. in einem Becherglase aufgefangen, mit Uhrglas bedeckt, wird gewogen und in ihr das Gewicht der Albuminstoffe des Blutes + Oxyhämoglobin zusammen nach § 268 bestimmt.

Die zweite Portion von etwa 20—30 CC. wird in einem Fibrinapparate (vergl. § 272, Fig. 6) aufgefangen, gewogen und das Fibrin darin bestimmt.

Die dritte Portion, auch etwa 20—30 CC. wird in einem Fibrinapparate aufgefangen, geschlagen, nach dem Erkalten gewogen, mit dem 10fachen Volumen einer Mischung von 1 Volumen concentrirter Lösung von Chlornatrium oder Natriumsulfat und 9 Volumen Wasser gemischt, 12—24 Stunden stehen gelassen oder durch Centrifuge die schnelle Absetzung der rothen Blutkörperchen herbeigeführt und, wenn die Blutkörperchen sich gut abgesetzt haben, die Flüssigkeit völlig klar abgegossen. Man rührt die Blutkörperchen noch ein oder zwei Mal mit einem der abgegossenen Flüssigkeit gleichen Volumen jener Salzlösung

auf, lässt einige Stunden ruhig stehen, giesst die Flüssigkeit klar ab, fällt dann mit überschüssigem Weingeist die Blutkörperchen, Fibrin und Rest der Waschflüssigkeit, den man nicht ohne Verlust abgiessen konnte, und bestimmt nach § 268 Albuminstoffe und Oxyhämoglobin, sowie die übrigen Bestandtheile der Blutkörperchen.

In der vierten Portion Blut, die man nicht zu klein nehmen darf und zweckmässig in einer Porcellanschale auffängt, lässt man nach Zudecken des Gefässes das Fibrin gerinnen; das dann allmälig aus dem Blutkuchen auslaufende Serum wird abgegossen in ein Becherglas, gewogen und nach § 268 darin der Gehalt an Albuminstoffen bestimmt.

Die sämmtlichen durch diese Bestimmungen erhaltenen Werthe werden dann zunächst für 100 gr Blut berechnet; man zieht nun das Gewicht der in der dritten Portion Blut getrennten Albuminstoffe + Oxyhämoglobin von dem Gewichte der Albuminstoffe + Oxyhämoglobin des ganzen Blutes, wie es in der ersten Portion ermittelt wurde, ab, der Rest ergiebt dann den Gehalt des Blutes an Serumalbuminstoffen. Das Verhältniss vom Serum zu den in ihm enthaltenen Albuminstoffen ergiebt sich aus der Untersuchung des Serums der vierten aufgefangenen Blutportion, man berechnet daraus den Serumgehalt in 100 gr Blut; dieser + Fibrin ergiebt das Gewicht des Plasma und letzteres von 100 subtrahirt das Gewicht der feuchten Blutkörperchen.

So umständlich diese Methode ist, empfiehlt sie sich durch leichte Ausführung und Genauigkeit, aber sie ist nur dann anwendbar, wenn die Blutkörperchen in dem mit oben beschriebener Chlornatriumlösung gemischten defibrinirten Blute sich so vollkommen absetzen, dass eine klare und baldige Trennung von der Flüssigkeit durch Abgiessen derselben ermöglicht ist. Sie ist daher besonders brauchbar bei der Analyse von Vogel-, Amphibien-, Fischblut bei Anwendung von Natriumsulfatlösung; nicht so gut geeignet ist sie für das Blut von Wiederkäuern und Schweinen. Für Menschenblut eignet sie sich meist gut. Man kann es nur bei Menschen und Säugethieren oft nicht vorauswissen, wie die Blutkörperchen sich verhalten werden. Hat man aber Grund zu vermuthen, dass die Blutkörperchen sich nicht gut absetzen werden, so verfährt man ganz in der gleichen Weise, wie es oben angegeben ist, nur ist die dritte Portion Blut womöglich etwas grösser (etwa 50 CC.) zu nehmen. Das weitere Verfahren giebt der folgende Paragraph.

III. Bestimmung des Gewichtes der nassen Blutkörperchen im Blute mittelst Farbenvergleichung von Blutlösung und Blutkörperchenlösung.

276. Allgemeiner anwendbar zur Bestimmung des Gewichtes der nassen Blutkörperchen, resp. ihres Wassergehalts, als das im vorigen

Paragraphen beschriebene Verfahren, aber auch weniger genau, ist die folgende Methode, welche auf doppelter Anwendung der Farbenvergleichung nach § 273 beruht. Ebenso wie es im vorigen Paragraphen geschildert ist, werden 4 Portionen Blut gesondert aufgefangen, die dritte derselben, wenn es möglich ist, mindestens zu 30—50 CC., die erste Portion im bedeckten Becherglase gewogen, die vierte bedeckt stehen gelassen, dann das Serum abgegossen, gewogen und nach § 268 untersucht. Die erste Portion wird wie das Serum mit Weingeist gefällt u. s. w. zur Bestimmung der Summe des Oxyhämoglobin und der Eiweissstoffe des ganzen Blutes.

Die zweite und ebenso die dritte werden im Fibrinapparate, vergl. § 272, Fig. 6, aufgefangen, bedeckt, geschlagen, gewogen, die zweite mit Wasser, die dritte mit verdünnter Kochsalzlösung (1 Volumen gesättigte Kochsalzlösung mit 9—15 Volumen Wasser vorher gut gemischt) versetzt.

Nach gutem Zusammenrühren mit dem Wasser wird in der zweiten Portion durch Abgiessen der Lösung, Sammeln des Fibrin auf dem Filter, Waschen desselben u. s. w., wie es in § 272 beschrieben ist, das Fibrin bestimmt, die gesammten Filtrate vereinigt, gut gemischt, das Volumen gemessen, eine Portion davon, die mindestens 10 CC. Blut entspricht, genau abgemessen, mit überschüssigem Weingeist gefällt und im Niederschlage nach § 268 die Albuminstoffe + Oxyhämoglobin bestimmt. Mittelst der übrigen Lösung wird durch Farbenvergleichung nach § 273 der Gehalt an Oxyhämoglobin im Blute bestimmt. Die mit Kochsalzlösung versetzte und gut zusammengerührte dritte Blutportion wird bedeckt einen Tag an einem kühlen Orte stehen gelassen, dann die Flüssigkeit so weit als es ohne zu bedeutenden Verlust an Blutkörperchen ausführbar ist, von dem aus Fibrin und Blutkörperchen bestehenden Niederschlage abgegossen. Der rückständige Blutkörperchenbrei wird abermals mit einer grösseren Portion verdünnter Chlornatriumlösung zusammengerührt, nach eintägigem Stehen vom Niederschlage abgegossen, dieselbe Procedur noch einmal wiederholt und hierbei die Flüssigkeit möglichst vollkommen abgegossen. Der Verlust an Blutkörperchen ist bei diesem Auswaschen bei verschiedenen Blutarten sehr verschieden; niedrige Temperatur ist durchaus erforderlich und längeres als höchstens zweitägiges Stehen zur besseren Senkung zu widerrathen, weil es sich dann leicht ereignen kann, dass im Niederschlage dunkle Flecke entstehen, in denen die venös gewordenen Blutkörperchen zusammengeschmolzen sind (wobei sich etwas Fibrin bildet) und deren nochmalige Behandlung mit Salzlösung nicht ausführbar ist, ohne dass etwas Blutkörpercheninhalt in Lösung übergeht. Der durch das Waschen

mit Salzlösung gereinigte Blutkörperchenbrei wird dann mit destillirtem Wasser übergossen, gut umgerührt, von dem zurückbleibenden Fibrin abgegossen. Von dieser Lösung ist nun 1) ein nicht zu geringer Theil genau abzumessen, im Becherglase mit überschüssigem Weingeist zu fällen und darin nach § 268 das Gewicht des Oxyhämoglobin + Albuminstoffe zu bestimmen; 2) in der übrigen Flüssigkeit nach § 273 durch Farbenvergleichung mit einer reinen frisch bereiteten Hämoglobinlösung der Hämoglobingehalt zu bestimmen. Beide ermittelten Werthe werden für 100 CC. Lösung berechnet und durch Subtraction der Oxyhämoglobinprocente von den Oxyhämoglobin- + Albuminprocenten werden dann die Procente von Albuminstoffen in der Blutkörperchenlösung erhalten. Unter der gewiss nicht gewagten Voraussetzung nun, dass beim Auswaschen der Blutkörperchen mit Salzlösung keine Eiweissstoffe in bemerkbarer Quantität in die Lösung übergehen (einige in dieser Richtung angestellte Versuche bestätigen die Richtigkeit dieser Annahme), würde durch die beschriebenen Bestimmungen in der Blutportion III das Verhältniss ermittelt sein, in welchem Oxyhämoglobin und Eiweissstoffe in den Blutkörperchen enthalten sind.

Es war nun ferner in der Blutportion I der Gehalt des Blutes an Oxyhämoglobin + gesammten Eiweissstoffen der Blutkörperchen so wie des Plasma bestimmt, in der Blutportion II der Gehalt des Blutes an Farbstoff und an Fibrin ermittelt, auch diese Werthe sind sämmtlich für 100 gr oder 100 CC. Blut zu berechnen; die Portion III giebt das Verhältniss von Farbstoff zu den Eiweissstoffen der Blutkörperchen — es sind somit alle zur Berechnung des Gehaltes an Oxyhämoglobin, Eiweissstoffen der Blutkörperchen und Eiweissstoffen des Plasma im Blute erforderlichen Elemente bekannt (es würde überflüssig sein, für diese einfache Rechnung eine Formel aufzustellen).

Sind nun ausserdem nach § 268 in der Blutportion I sowie im Serum die sämmtlichen übrigen festen Stoffe bestimmt und für 100 gr Flüssigkeit berechnet, so ist hiernach auch der Procentgehalt des ganzen Blutes und seines Plasma (Serum + Fibrin) an Wasser bekannt und man erhält schliesslich die den Blutkörperchen zugehörige Wassermenge, wenn man die entsprechend der Analyse des Serum den Serumalbuminstoffen im Blute zugehörige Wasserquantität von dem gesammten Procentgehalte des Blutes an Wasser subtrahirt.

Diese allerdings umständliche, sehr zeitraubende und doch theilweise zur Verhütung von Zersetzungen schnell auszuführende Methode der Bestimmung der wichtigsten Bestandtheile der Blutkörperchen ist, wie ersichtlich, ganz allgemein anwendbar und leidet nur an den bis

jetzt noch unvermeidlichen Ungenauigkeiten, welche an den Blutfarbstoffbestimmungen haften.

Die Gesammtblutanalyse.

277. Nachdem in den vorhergehenden Paragraphen die Methoden der Bestimmung des Fibrin, des Oxyhämoglobin und der nassen Blutkörperchen bereits ausführlich beschrieben sind, ist über die gesammte Blutanalyse nur wenig noch hinzufügen.

Bestimmt man im Blutserum der vierten Blutportion (vergl. § 276) sowie in dem ganzen Blute der ersten Blutportion ausser den Albuminstoffen noch nach dem in § 268 beschriebenen Verfahren die Gewichte der Extractivstoffe und Fette, der löslichen und unlöslichen Salze, so sind damit alle die Werthe ermittelt, die zur Berechnung der Zusammensetzung des Blutes im Allgemeinen erforderlich sind.

Ist nämlich zunächst gemäss dem in § 275 oder § 276 beschriebenen Verfahren bestimmt, wie gross der Gehalt an Serum in 100 gr Blut ist, so ergiebt sich aus der procentischen Zusammensetzung des Serum, wie viel lösliche, wie viel unlösliche Salze, wie viel Fette und wie viel Extractivstoffe diesem Serum in 100 gr Blut zugehören. Zieht man aber diese Werthe von dem Gehalte des ganzen Blutes an diesen einzelnen Stoffen ab, so bleibt als Rest der Gehalt der Blutkörperchen an jedem dieser Stoffe in 100 gr Blut.

Bestimmung der Quantität des Blutes, welches ein Thier enthält.

278. Aus einem grösseren Blutgefässe lässt man am Besten in einen Fibrinapparat (vergl. § 272) eine Quantität Blut von 30—50 CC. einfliessen, bedeckt mit der Kautschukkappe, schlägt das Blut und wägt es in diesem Gefässe. Das sämmtliche übrige Blut, welches aus den geöffneten Gefässen zum Ausfliessen gebracht werden kann, wird in einem hinreichend grossen Glase aufgefangen und geschlagen. Das Blut, welches in der Wunde geblieben ist, wird mit Wasser abgewaschen und unter Vermeidung jeden Verlustes zu dem nicht gewogenen geschlagenen Blute gebracht. Darauf zerkleinert man das ganze Thier auf einer Schüssel, entfernt Speisereste und Koth aus dem Darme, sowie die Gallenblase oder wenigstens deren Inhalt und zieht nun die zerkleinerte Masse so lange mit erneuten Portionen kalten Wassers aus, als dies noch deutliche rothe Färbung annimmt. Die Knochen werden zu dem Zwecke zunächst herauspräparirt und dann in einem eisernen Mörser gut zerstossen. Die gesammelten Waschflüssigkeiten durch Leinwand filtrirt, werden mit dem nicht gewogenen Blute gemischt, das Volumen der Mischung gemessen, eine Portion derselben

nach § 273 zur colorimetrischen Farbstoffbestimmung in den Apparaten Fig. 7 oder 8 verwendet.

Von der abgewogenen Blutportion im Fibrinapparate bestimmt man dann entweder mit dem Pycnometer das spec. Gewicht oder misst direct das Volumen, verdünnt es dann mit dem neunfachen Volumen Wasser und vergleicht colorimetrisch in den Apparaten Fig. 7 oder 8 in § 273 den Farbstoffgehalt mit dem der obigen Lösung nach dem dort angegebenen Verfahren, indem man cubikcentimeterweise Wasser aus einer Bürette hinzufliessen lässt und mit einem Fischbeinstäbchen mischt, bis die Färbung der Flüssigkeiten in beiden Abtheilungen des Colorimeters gleich ist. Ist die Färbung noch ziemlich dunkel, so verdünnt man die erstere Flüssigkeit (Blut und Waschwasser der Organe) mit gemessener Quantität Wasser und wiederholt diese Bestimmung. Haben aber beide Flüssigkeiten gleiche Farbe, so enthalten sie auch gleichen Procentgehalt an Blut; da nun von der einen der Procentgehalt bekannt ist und das Volumen sowie das Gewicht des Blutes, aus welchem sie gewonnen wurde, so erhält man als Product des Procentgehaltes und des gemessenen Volumens von dem Gemisch der Waschflüssigkeit und des Blutes auch den Gehalt dieser Flüssigkeit an Blut. Addirt man dann die gewogene und gemessene Quantität Blut, die zuerst aufgefangen wurde, zu dieser übrigen Portion Blut, so erhält man das Gesammtgewicht und Volumen des Blutes vom ganzen Thiere.

Die Ausführung dieser Untersuchung ist ziemlich umständlich, aber diese Methode, die im Wesentlichen von Welcker[1]) zuerst angegeben ist, bietet allein die Sicherheit für einigermassen richtige Bestimmung, da das Blut allein Oxyhämoglobin und die übrigen Organe keine die Waschflüssigkeit färbenden Stoffe enthalten[2]). Mag nun auch der Gehalt an Blutkörperchen nicht in allen Gefässprovinzen der gleiche sein, so ist diese Verschiedenheit doch nachweisbar eine sehr unbedeutende.

Statt das Thier nach dem Verbluten gleich zu zerkleinern, hat Gscheidlen[3]) die Adern mit einer wässerigen Chlornatriumlösung von $^1/_2$ pCt. Gehalt ausgespritzt, bis die Lösung farblos aus der geöffneten Vene abfloss. Den im Fleische nachher noch gefundenen Oxyhämoglobingehalt bezieht er auf die Muskeln. Endlich vergiftete Gscheidlen die Thiere zuerst mit Kohlenoxyd und sättigte nachher die Blutlösung noch mit diesem Gase. Heidenhain[4]) machte zuerst die colori-

[1]) Prager Vierteljahrsschr. Bd. 4 S. 11.

[2]) Nur das Herz und einige andere Muskeln enthalten in ihrer Substanz ausserhalb der Blutgefässe ein wenig Hämoglobin.

[3]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 7 S. 530.

[4]) Arch. f. physiol. Heilk. N. F. Bd. 1 S. 507.

metrische Bestimmung im arteriellen Zustande der Lösungen, wiederholte die Vergleichung dann nach Entfernung des Sauerstoffs, und sah das Mittel aus beiden Bestimmungen als den richtigsten Werth an.

Die sämmtlichen übrigen vorgeschlagenen Methoden, die den Zweck der Bestimmung des Blutgewichtes oder Blutvolumens eines Thieres verfolgen, müssen ihrer nachweisbaren grossen Fehlerquellen wegen hinter der obigen nicht allein zurückstehen, sondern sind sogar als total unbrauchbar zu verwerfen.

Die farblosen Blutzellen.

279. Da man auf keine Weise bis jetzt die farblosen Blutzellen isoliren kann, ist es die einzige Möglichkeit, über ihre Zusammensetzung dadurch etwas zu erfahren, dass man ein an diesen Zellen reiches Blut in der chemischen Zusammensetzung mit einem an denselben armen Blute vergleicht, ohne dass diese Vergleichung in der Beziehung eine Sicherheit böte, dass nicht in dem an farblosen Zellen reichen Blute auch das Plasma andere Zusammensetzung habe. Die Senkung der farblosen Blutzellen geht langsamer vor sich, als die der rothen Blutkörperchen, wenn daher sich eine crusta inflammatoria bei der Gerinnung des Blutes bildet, so enthält dieselbe viel Lecithin durch warmen Alkohol ausziehbar und unter dem Mikroskope zeigt sich, dass das Fibrin in der crusta viele farblose Blutzellen einschliesst. Ist das Blut reich an farblosen Blutzellen, so werden auch die in der Agone vor dem Tode im Herzen ausgeschlagenen Fibringerinnsel so reich an diesen Zellen, dass sie milchig oder eiterig trübe und sehr locker zerreiblich erscheinen. Die Untersuchung dieser Gerinnsel im Vergleich mit der des Serum von demselben Blute könnte Aufschluss über die Zusammensetzung der farblosen Blutzellen geben. Eine solche Untersuchung ist jedoch noch nicht bekannt. Um über den Gehalt des Blutes an farblosen Zellen Aufschluss zu erhalten, begnügt man sich, in einem Tröpfchen dieses Blutes unter dem Mikroskope durch Zählung das Verhältniss der farblosen Blutzellen zu den farbigen Körperchen zu ermitteln.

Die rothen Blutkörperchen von Menschen und Säugethieren enthalten so wenig als das Plasma Nucleïn, dasselbe findet sich aber in den weissen Blutkörperchen*) und tritt nach Kossel's Untersuchungen im leukämischen Blute reichlich auf. Durch Bestimmung der dem Nucleïn zugehörenden Phosphorsäure in den genannten Blutarten nach Kossel's

*) Ueber „Nucleïnplättchen“ siehe bei Lilienfeld, Arch. f. Anat. und Physiol., physiol. Abthl. 1892 S. 115.

Methode (vergl. unten Untersuchung der Muskeln und Drüsen) wird man einen Ausdruck für die Menge der enthaltenen farblosen Blutkörperchen erhalten können, wenn für mehrere Blutportionen von verschiedenem Gehalt an farblosen Zellen 1) die Phosphorsäure des Nucleïngehaltes, 2) die Zahl der farblosen Zellen in der Volumeneinheit bestimmt sind.

---

5. Untersuchung der Secrete.

Allgemeines.

280. Die Untersuchung der Secrete ist in chemischer Beziehung noch wenig vorgeschritten, mit Ausnahme der Galle kennen wir von den Verdauungssecreten wohl eine Anzahl chemischer Actionen als Fermentwirkungen, aber kaum eins dieser Fermente ist isolirt dargestellt und die Zusammensetzung der Secrete ist nur ungenügend erforscht. Es kann daher auch nicht die Aufgabe dieser Anleitung sein, ausführliche Methoden zu ihrer Untersuchung zu geben, da deren Auffindung der Zukunft vorbehalten bleibt; ausser der Zusammensetzung, soweit dieselbe ermittelt ist, sollen im Folgenden nur diejenigen Reactionen durchgegangen werden, durch welche diese Secrete in physiologischer und pathologischer Hinsicht Interesse erregt haben, und nur für die Galle und die Milch, die einzigen dieser Secrete, welche nicht sehr wässerig und dabei leicht in grösserer Menge zu beschaffen sind, können bestimmte Methoden der Untersuchung angegeben werden.

Die Untersuchung der anorganischen Stoffe in den Secreten, auch die Prüfung auf Fette, Zucker und andere derartige in den Organen verbreitete Stoffe können in den Secreten, so weit nicht bei dem einzelnen Secrete die Untersuchungsmethode speciell beschrieben ist, nach den Verfahren ausgeführt werden, welche für die serösen Flüssigkeiten in den §§ 262—268 beschrieben sind.

Die Secrete der Speicheldrüsen.

Parotidensecret.

281. Das normale Secret der Parotis stellt bei Menschen und Thieren, so weit es bis jetzt untersucht ist, stets eine wasserklare Flüssigkeit dar, welche wie Wasser tropft, also durchaus nichts Schleimiges hat, alkalisch reagirt, beim Kochen und ebenso bei gewöhnlicher Temperatur beim Stehen an der Luft unter Abscheidung eines feinen Niederschlags von kohlensaurem Kalk mit wenig Albuminstoff sich trübt. Durch hinreichenden Zusatz von Salpetersäure, ebenso durch Essigsäure und Ferrocyankalium wird aus dem Parotidensecrete ein Albuminstoff gefällt, dessen nähere charakterisirende

Reactionen noch nicht erkannt sind. Besonders reichlich findet sich verhältnissmässig dieser Albuminstoff im Pferdeparotidenspeichel. Eine oder mehrere flüchtige fette Säuren, auch etwas Harnstoff werden als Bestandtheile des Parotidensecretes angegeben und von anorganischen Stoffen ausser dem kohlensauren Kalk, der vielleicht in der frisch secernirten Flüssigkeit als doppelt kohlensaures Salz enthalten ist, Kali und Natron an Schwefelsäure, Phosphorsäure und Salzsäure gebunden. Die Chlormetalle sind am Reichlichsten darin enthalten, aber der Gehalt an anorganischen Stoffen ist in diesem Secrete nicht höher als zu 0,3 bis 1,0 pCt. angegeben; auch die organischen Stoffe betragen nach den meisten Analysen kaum 0,5 pCt. Menschlicher Parotidenspeichel enthält sehr oft Schwefelcyankalium.

Submaxillardrüsen- und Sublingualdrüsensecret.

282. Das menschliche Submaxillardrüsensecret ist eine alkalisch reagirende, schleimige, fadenziehende Flüssigkeit, welche im normalen Zustande wenig Speichelkörperchen enthält. Mucin, geringe Menge eines Albuminstoffes, Schwefelcyansäure und ein Amylum in Zucker umwandelndes Ferment sind darin nachgewiesen. Bei Stagnation im Drüsengange wird das Secret trübe bei reicherem Gehalte an Speichelkörperchen. Der Submaxillarspeichel vom Hunde ist gleichfalls stets alkalisch, mehr oder weniger fadenziehend, enthält Mucin neben einem oder mehreren Eiweissstoffen, zeigt höchst unbedeutende Einwirkung auf Stärkemehl, wenn sie überhaupt eintritt. Je nach den Verhältnissen, unter denen der Speichel secernirt wird und nach den Eigenthümlichkeiten des Secretes selbst unterscheidet man Chordaspeichel, Sympathicusspeichel und paralytischen Speichel. Der bei elektrischer Reizung der chorda tympani oder bei Reizung der Zunge durch Säuren abgeschiedene Speichel ist nur wenig fadenziehend, dünnflüssig, giebt beim Durchleiten von Kohlensäure eine Trübung, die beim Schütteln mit Luft wieder verschwindet. Beim längeren Stehen scheidet sich neben amorpher eiweissartiger Substanz ein feinkrystallinischer Niederschlag von kohlensaurem Kalk ab. Der bei elektrischer Reizung des Sympathicus oder bei Reizung der Zunge mit Alkalien oder mit Pfeffer abgeschiedene Speichel ist sehr zäh, schleimig, enthält Klümpchen von Schleim, erweist sich auch bei Essigsäurezusatz reich an Mucin, enthält mehr feste Bestandtheile als der Chordaspeichel, reagirt stark alkalisch, ist aber noch wenig untersucht. Noch weniger untersucht ist der sehr wässerige Speichel, der bei Curarevergiftung der Drüse oder nach Durchschneidung sämmtlicher Drüsennerven secernirt wird.

Der Speichel der Sublingualdrüse ist noch zäher, schlei-

miger als das Submaxillardrüsensecret, reagirt auch alkalisch; da sehr wenig aus der kleinen Drüse secernirt wird, ist das Secret noch wenig untersucht.

Gemischter Mundspeichel.

Bestimmung des Schwefelcyansäuregehaltes u. s. w.

283. Der Speichel, wie er beim Offenhalten des Mundes unter Vermeidung des Schlingens ausfliesst, ist ein ungleichförmiges theils tropfbar flüssiges, theils zähschleimiges Gemenge der drei in den letzten Paragraphen beschriebenen Secrete und der geringen schleimigen, von der Schleimhaut des Mundes und deren Drüschen secernirten Flüssigkeit. Ausser einer trübenden Beimengung von losgestossenem Epithel der Mund- und Zungenschleimhaut finden sich darin kleinere rundliche Speichelkörperchen. Die Reaction, gewöhnlich und besonders nach dem Essen stets alkalisch, kann bei längerem Nüchternsein und besonders nach vielem Sprechen sauer werden.

Der normale Speichel giebt Trübungen oder flockige Niederschläge durch Kochen, ebenso durch Zusatz von Alkohol, Salpetersäure, essigsaures Bleioxyd, Quecksilberchlorid, Gerbsäure, Essigsäure. Der Speichel einiger Thiere (z. B. Pferd) trübt sich stark beim Stehen an der Luft, der des Menschen und mancher Thiere weniger, doch enthält er stets etwas kohlensauren Kalk.

Sehr häufig enthält der gemischte Speichel so wie das Parotidensecret des Menschen Schwefelcyansäure; der Nachweis derselben wird durch die § 79 angegebenen Reactionen direct im Speichel geliefert.

Will man die Colasanti'sche Reaction anstellen, so muss man zunächst den Speichel mit Alkohol ausfällen, das alkoholische Filtrat verdunsten und den in Wasser gelösten Rückstand für die Reaction verwenden.

Zur quantitativen Bestimmung der Schwefelcyansäure wird*) die nicht zu kleine gewogene Speichelquantität bei mässiger Temperatur verdunstet, der Rückstand mit Alkohol ausgezogen, filtrirt, das Filtrat verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst, mit Salpetersäure angesäuert, mit Silbernitrat gefällt, so lange Niederschlag entsteht, der Niederschlag abfiltrirt, getrocknet, mit Soda und Salpeter geglüht, die Schmelze in Wasser gelöst, filtrirt, mit Salpetersäure übersättigt und durch Chlorbarium die Schwefelsäure gefällt, das Bariumsulfat endlich auf kleinem Filter gesammelt, getrocknet, geglüht und gewogen. 1 Gewichtstheil $BaSO_4$ entspricht 0,2532 Gewichtstheilen CNSH.

*) Munk, Arch. f. pathol. Anat. Bd. 69 S. 350.

Ungefähre Bestimmung des Gehaltes an Schwefelcyansäure kann man auf folgendem Wege erreichen; Eine getrocknete und gewogene Quantität Schwefelcyankalium (etwa 0,05 gr davon) löst man in Wasser, fügt Eisenchlorid hinzu, bis die Lösung auf weiteren Zusatz eines Tropfens keine weitere Dunkelfärbung mehr erfährt, und misst das Volumen der Lösung. Man bringt dann die gemessene Menge des zu untersuchenden Speichels in einen Glaskasten mit planparallelen Wandungen und fügt auch hierzu tropfenweise Eisenchlorid und ein Wenig Salzsäure unter Umrühren, so lange Rothfärbung stattfindet, bestimmt die dadurch bewirkte Vergrösserung des Volumen des Speichels, bringt einige Cubikcentimenter der mit Eisenchlorid gerötheten Schwefelcyansäurelösung genau abgemessen in einen zweiten dem ersten ganz gleichen Glaskasten und verdünnt mit gemessenen Mengen Wasser cubikcentimeterweise, bis die Farbe der Flüssigkeiten in beiden Glaskästen gleich ist. Es ist nun leicht, aus der Menge der in den zweiten Glaskasten gebrachten Schwefelcyanlösung und ihrer Verdünnung zu berechnen, wie gross ihr Procentgehalt an Schwefelcyansäure ist, und wenn der des Speichels ihr gleich ist, so ergiebt der Procentgehalt multiplicirt mit der Quantität des Speichels die absolute Quantität Schwefelcyansäure, welche sich in der gemessenen Menge des Speichels befindet.

Solera[1]) hält die Jodsäure für das feinste Reagens auf Schwefelcyanverbindung im Speichel; fügt man sie zu Speichel, so färbt er sich gelb und giebt mit Stärkekleister blaue Färbung. Diese Reduction von Jod wird nach seinen Versuchen im Speichel nur durch Schwefelcyanverbindung bewirkt.

Schoenbein[2]) hat gefunden, dass der gemischte Speichel gewöhnlich, jedoch nicht immer salpetrigsaures Salz enthält. Um darauf zu prüfen, versetzt man gekochten Stärkekleister mit etwas Jodkalium und fügt nach Umschütteln einige Tropfen verdünnte Schwefelsäure hinzu. Enthält der Speichel salpetrige Säure, so giebt er mit dieser Mischung sofort blaue Jodstärke.

Nach Wurster[3]) enthält der frische Speichel in der Regel keine salpetrige Säure, sondern Wasserstoffhyperoxyd, welches aber alsbald aus dem Ammoniak des Speichels salpetrige Säure bildet.

Der gemischte Speichel besitzt die Fähigkeit, Stärke in Dextrin, Maltose und Glucose zu verwandeln; doch ist auch diese Eigenschaft des gemischten Speichels keine constante und insbesondere wirkt der kurz nach dem Essen secernirte Speichel oft nur

---

[1]) Jahresber. f. Thierchemie v. Maly, Bd. 7 S. 256.

[2]) Journ. f. prakt. Chem. Bd. 86 S. 151.

[3]) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 22 S. 1901.

langsam auf Stärke ein. Die Geschwindigkeit der Umwandlung der Stärke ist abhängig vom Grade der Quellung der letzteren, der Qualität und Quantität des Speichels, der guten Mischung der Flüssigkeiten und der Temperatur; bei Bluttemperatur geht die Umwandlung weit schneller vor sich als bei gewöhnlicher Temperatur, am Besten bei 40°.

Ob ein Speichel im Stande ist, aus Stärke Zucker zu bilden, prüft man dadurch, dass man Amylum mit viel Wasser kocht, erkalten lässt und 1 Theil Speichel mit etwa 10 Theilen Stärkelösung mengt. Man prüft eine Portion der Mischung nach einigen Minuten, nach $^1/_4$ Stunde eine zweite Portion u. s. w. durch die Trommer'sche Probe (vergl. oben § 52); da das Amylum das Kupferoxydhydrat nicht verändert, so ergiebt die eintretende Reaction die Anwesenheit von Dextrin und Zucker. Um quantitativ die gebildete Maltose zu bestimmen, fällt man die Mischung von Speichel und Amylumlösung mit Alkohol, verdunstet das Filtrat, extrahirt den Rückstand mit absolutem Alkohol, verdunstet die filtrirte Lösung, löst den Rückstand in Wasser. Nachdem dann das Volumen dieser Lösung bestimmt ist, titrirt man mit einem Theil derselben 5 oder 10 CC. Fehling'scher Lösung nach § 252. Die übrige gemessene Lösung versetzt man mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure, kocht kurze Zeit, lässt erkalten, neutralisirt mit Natriumcarbonat, bringt wieder auf das frühere Volumen und titrirt abermals 5—10 CC. Fehling'scher Lösung. Das Ende der Titrirung wird jetzt durch weniger Flüssigkeit erreicht als vor dem Kochen mit Schwefelsäure und der Unterschied lässt nach § 55 berechnen, wie viel Maltose und wie viel Glucose in der Lösung war.

Die Umwandlung des Glycogens durch Speichel in Zucker ist der Umwandlung des Amylum völlig analog.

Ueber die Isolirung des Körpers, welcher die Verwandlung von Amylum in Dextrin und Zucker bewirkt und welchen man Ptyalin genannt hat, vergl. § 198.

Untersuchung des Mundspeichels in Krankheiten.

284. In fieberhaften Krankheiten tritt zwar keine bekannte qualitative Aenderung der Zusammensetzung des Speichels ein, aber die Quantität ist bedeutend verringert, wie es scheint stockt die Secretion oft gänzlich, daher die Trockenheit des Mundes und Rachens, belegte Zunge, veränderter Geschmack u. s. w.

Der Speichel bei Jod- und Mercursalivation enthält reichliche Beimengung der Secrete der katarrhalisch entzündeten Mund- und Rachenschleimhaut, deswegen giebt derselbe beim Kochen unter Zusatz von etwas Säure meist reichliche Gerinnung besonders bei Mercurialsalivation

und enthält über 0,7 pCt. anorganische Salze, während der normale Speichel viel geringeren Salzgehalt besitzt.

Blutkörperchenbeimengung findet sich bei Entzündung des Zahnfleisches und anderer Theile des Mundes, auch der Nase häufig. Man erkennt sie am Besten mikroskopisch, aber auch im Spectrum ist sie nach § 191 gut zu erkennen.

Bei Icterus scheint der Speichel stets von Gallenfarbstoffen frei zu bleiben. Im Speichel von Diabetikern ist nie Zucker, aber oft saure Reaction, in einem Falle nach Lehmann durch freie Milchsäure bedingt gefunden.[1]) Saure Reaction des Speichels hat sich auch bei Digestionsstörungen häufig gezeigt, bei fieberhaften Zuständen resultirt sie offenbar aus dem Mangel an Secretion der eigentlichen Speicheldrüsen. Leucin ist einmal im Speichel einer Hysterischen gefunden. Bei Nephritis enthält der Speichel in der Regel Harnstoff[2]); bei Urämie fand Boucheron[3]) Harnsäure (direct durch die Murexidprobe nachweisbar).

Die Reactionen und Darstellungsmethoden, welche zur Auffindung des Gallenfarbstoffs, der Milchsäure, des Leucin u. s. w. führen, sind in der ersten Abtheilung bei der Abhandlung dieser einzelnen Körper hinreichend besprochen und überhaupt kann man in Hinsicht auf diese qualitativen Untersuchungen als auch bezüglich der quantitativen Bestimmungen, z. B. des Harnstoffs, den Speichel in der gleichen Weise behandeln, wie es oben für die serösen Flüssigkeiten, Blutserum, Transsudate u. s. w. angegeben ist.

Speichelsteine, Zahnstein.

285. Bei Menschen und Säugethieren werden oft Concremente in den Speichelgängen gefunden, die man als Speichelsteine bezeichnet hat. Sie bestehen fast immer im Wesentlichen aus kohlensaurem Kalk, enthalten jedoch dabei etwas Kalkphosphat und eine Albuminsubstanz in verschiedener Menge, die nicht hinreichend untersucht ist. Die Speichelsteine sind, wenn nicht mehrere neben einander liegen und sich gegenseitig abschleifen, rundlich, meist hart und schwer, weiss oder gelblich. Zu ihrer Untersuchung zerreibt man ein Stück in der Reibschale und löst in Salzsäure. Der kohlensaure Kalk löst sich neben dem phosphorsauren Kalke unter Aufbrausen, die organische Substanz bleibt zurück und wird abfiltrirt; das Filtrat wird wie die salzsaure Lösung einer Asche nach § 203 untersucht. Zur quantitativen Be-

---

[1]) In saurem Parotidensecrete von einem Diabetiker fand Limpricht keine Milchsäure. Berl. klin. Wochenschr. 1866 No. 16.

[2]) Verhandl. d. II. Congr. f. inn. Med. Wiesbaden 1883. S 119.

[3]) Compt. rend. T. 100 p. 1308.

stimmung wäscht man das abgewogene Pulver mit kochendem Wasser, filtrirt durch gewogenes Filter, trocknet, wägt wieder, verascht mit dem Filter, fügt zur Asche nach dem Erkalten etwas Lösung von kohlensaurem Ammoniak, trocknet, erhitzt zum beginnenden Glühen, bedeckt und wägt nach dem Erkalten. Man ermittelt auf diese Weise die in Wasser löslichen Substanzen, die Gewichte der organischen und der anorganischen Bestandtheile des Steins. In den geglühten Salzen bestimmt man nach den für die Aschen gegebenen Vorschriften § 205—215 Kohlensäure, Phosphorsäure, Kalk u. s. w.

Der Zahnstein, welcher sich an schlechten Zähnen bei Menschen und alten Hausthieren absetzt, besteht aus denselben Bestandtheilen als die Speichelsteine, enthält aber mehr phosphorsauren Kalk und schliesst viele Spaltpilze ein. Er wird auf dieselbe Weise untersucht, wie die Speichelsteine.

Untersuchung des Nasensecretes.

286. Aus den seitherigen spärlichen Untersuchungen des Secretes der Nasenschleimhaut geht soviel hervor, dass dasselbe neben einem relativ reichlichen Gehalte an Mucin, Schleimkörperchen und Resten von Epithelzellen nur 1—3 pCt. Extractivstoffe und 0,5—0,6 pCt. anorganische Salze enthält. Je mehr katarrhalisches Transsudat bei Entzündungen sich beimengt, desto mehr tritt der Schleimgehalt zurück, während ein Gehalt an Albumin sich zeigt (nachweisbar durch Essigsäure und Ferrocyankalium oder Salpetersäure) und der Gehalt an anorganischen Salzen bis gegen 1 pCt. steigt. Wird das Secret eitrig, so nimmt der im normalen Nasenschleim äusserst geringe Gehalt an Aetherextractrückstand beträchtlich zu. Die qualitativen und quantitativen Untersuchungen des Nasensecretes werden wie die der serösen Flüssigkeiten (vergl. §§ 260—268) ausgeführt. Nasensteine werden wie Speichelsteine untersucht.

Untersuchung der Sputa.

287. Während die mikroskopische Untersuchung der Sputa sehr wichtige pathognomonische Befunde geliefert hat, ist die chemische Erforschung derselben noch nicht weit gediehen.

Zur Bestimmung des spec. Gewichtes*) verflüssigt man das Sputum zunächst in einem Kölbchen mit Steigrohr durch Erwärmen auf dem Wasserbade und füllt es dann in ein Pyknometer. Das spec. Gewicht

*) H. Kossel, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 13 S. 149.

schwankt zwischen 1004 und 1037. Das rein schleimige Sputum hat das niedrigste, das seröse das höchste spec. Gewicht.

Die gewöhnlichen katarrhalischen Sputa zeigen dieselben Eigenschaften und dieselbe Zusammensetzung wie das katarrhalische Nasensecret, sie geben durch ihr Verhalten gegen Essigsäure ihren Gehalt an Mucin, durch das Verhalten gegen Salpetersäure und beim Kochen ihren Albumingehalt zu erkennen, aber nur der acute Katarrh liefert immer albuminhaltiges Secret in dem Stadium lebhafter Transsudation. Wichtig sind besonders die sanguinolenten Sputa der Pneumonien, die pigmentirten Sputa chronischer Katarrhe, die Sputa bei Lungenbrand, Cavernen, Bronchektasien, welche freie fette Säure enthalten.

Die gelben oder rothen Blutkörperchen enthaltenden Sputa, im Stadium der pneumonischen Infiltration ausgeworfen, sind zäh gallertigschleimig, durchscheinend, zeigen Gerinnung beim Erhitzen auf 100°, aus dem Gerinnsel zieht Essigsäure kleine Quantitäten eines Albuminstoffes aus, der vor der Behandlung in höherer Temperatur sich in Salzwasser zu lösen scheint und wohl der Gruppe des Myosins und der fibrinbildenden Substanzen angehört. Vielleicht spielt dieser Körper bei der Hepatisation der Lunge selbst eine bedeutende Rolle.

Die grünen Farbstoffe der Sputa, welche bei Icterus und Lungenkatarrh oder schleichender Pneumonie und acuter Pneumonie mit Icterus sich zeigen, vielleicht Zersetzungsproducte des Hämoglobins, sind noch nicht untersucht; unter Umständen ist die grüne Farbe durch farbstoffbildende Bacterien hervorgerufen.

Die perlgrauen Sputa, welche bei chronischen trockenen Katarrhen häufig beobachtet werden, enthalten pigmentirte Zellen, deren Pigmente in alkalischer Lösung durch Chlor schnell gebleicht werden.

Erscheint ein Sputum grau oder schwärzlich und zweifelt man, ob nicht eingeathmete Kohlenpartikel (Lampenruss u. s. w.) diese Färbung bedingen, so löst man das Sputum in verdünntem Aetznatron und leitet einige Minuten Chlorgas ein, Kohle bleibt völlig unverändert, alle organischen Farbstoffe dagegen werden entfärbt. Eisenoxyd, Manganhyperoxyd würden erst entfärbt und gelöst werden, wenn man dann mit Salzsäure übersättigt und erwärmt. Phthisische und pneumonische Sputa enthalten Nucleïn (H. Kossel), welches in der § 324 beschriebenen Weise nachgewiesen werden kann. Ueber das Vorkommen von Pepton im Sputum sind die Angaben verschieden.

Durch Fäulniss werden die Sputa in Brandhöhlen, Bronchektasien und tuberkulösen Cavernen zersetzt unter Bildung gewöhnlicher Fäulnissproducte der Albumin- und Schleimstoffe, des Lecithin und der Fette. Ausser Ammoniak und Schwefelwasserstoff erscheinen in der ausgeath-

meten Luft offenbar flüchtige fette Säuren und die ausgeworfenen Sputa enthalten durch Zerlegung von Lecithin oder Fetten entstandene Krystalle von Palmitin- und Stearinsäure (in Aether leicht gelöst) als dünne, breite und biegsame Nadeln. Die leichter flüchtigen fetten Säuren trennt man durch Destillation mit verdünnter Schwefelsäure (vergl. § 34), die Palmitinsäure und Stearinsäure zieht man mit Aether aus, trennt sie dann von den Fetten durch Schütteln mit verdünnter Natronlauge und zerlegt die Seifen mit Salzsäure (vergl. § 48). Nicht selten finden sich in solchen Fällen die Charcot'schen Krystalle (vergl. oben § 70).

Ueber das aus phthisischem Sputum von Pouchet dargestellte Kohlehydrat vergl. § 60. Loebisch und v. Rokitansky*) erhielten aus einem bronchiectatischen Sputum nach der Methode von Baumann und v. Udránszky die Benzoylverbindung einer Base, welche sie für Pentamethylendiamin halten.

Cholesterinkrystalle kommen in den Sputis zuweilen bei Durchbruch von Empyemen in die Lunge vor, ebenso sind Hämatoidinkrystalle in solchem Falle in den Sputis beobachtet.

Untersuchung des Magensecretes und Mageninhalts.

288. Der Magensaft, welcher sich vor allen übrigen Secreten durch seine intensiv saure Reaction auszeichnet, stellt eine wasserklare, nicht schleimige, sondern gut filtrirbare Flüssigkeit dar, die ausser freier Salzsäure, Salze, unter ihnen saure phosphorsaure Salze, Pepsin, Labferment und in allen Fällen wohl auch Beimengung von Pepton enthält; wegen des Gehaltes an Peptonen zeigt er stets eine je nach der Concentration grössere oder geringere linksseitige Circumpolarisation.

Im Mageninhalt vorhandene Milchsäure und flüchtige Säuren sind, wenn nicht etwa präformirt eingebracht, stets als Gährungsprodukte anzusehen, sie finden sich um so reichlicher, je länger die Speisen im Magen liegen bleiben. Der Mageninhalt von Leichen enthält oft viele fette, flüchtige Säuren und Milchsäure, besonders bei sehr kleinen Kindern.

Die meist reichlichen Ansammlungen in dilatirten Mägen, durch den Heber entleert, enthalten neben unverdauten Speisen vielfach sehr gut verdauenden Magensaft.

Das Pepsin fehlt nur bei Atrophie der Magenschleimhaut, das Labferment auch sonst wohl unter pathologischen Verhältnissen z. B. bei Carcinom.

*) Centbl. f. klin. Med. Bd. 11 S. 1.

In der ersten Zeit nach Einnahme der Speisen findet sich keine freie Salzsäure im Mageninhalt, indem sämmtliche secernirte Salzsäure an Eiweiss und Verdauungsprodukte der Eiweisse (Pepton, Amidosäuren) gebunden ist.

Unter normalen Verhältnissen lässt sich regelmässig nach 3—5 Stunden (je nach der Reichhaltigkeit der Mahlzeit) freie Salzsäure nachweisen; bei Carcinom, Magenkatarrhen, Fieber ist in der Mehrzahl der Fälle dieser Nachweis zu keiner Zeit zu führen und zwar deshalb, weil die Menge der Verdauungsproducte mehr wie hinreicht, um die in geringerer Quantität secernirte Salzsäure zu binden[1]). Ein Sistiren der Salzsäureabsonderung findet entgegen früheren Angaben auch in den genannten pathologischen Zuständen nicht statt[2]). Unter „freier Salzsäure" ist also die weder an Metalle, noch Eiweisstoffe und Verdauungsprodukte gebundene Salzsäure zu verstehen, unter „Gesammtsalzsäure" sämmtliche nicht an Metalle gebundene.

Prüfung auf freie Säuren im Magensaft und Mageninhalt.

289. Qualitative Prüfung auf „freie Salzsäure" durch Farbenreaktionen:

Von Reoch[3]) wurde zuerst aufmerksam gemacht auf das verschiedene Verhalten starker anorganischer Säuren gegenüber den meisten organischen Säuren in verdünnten Lösungen gegen eine Mischung von weinsaurem und citronensaurem Eisenoxydsalz und Schwefelcyanammonium. Nur die anorganischen Säuren rufen blutrothe Färbung durch Bildung von Eisenrhodanid hervor, die organischen Säuren ändern dagegen die Farbe der Mischung nicht. Szabó[4]) wandte diese Reaction zur Prüfung des Magensafts auf freie Salzsäure an, von den Velden[5]) empfahl zu dem gleichen Zweck Methylanilinviolett, Tropäolin OO und Fuchsin zu benutzen; seitdem sind noch sehr viele andere Substanzen angegeben, welche ebenfalls mit verdünnter Salzsäure, nicht mit verdünnten organischen Säuren Farbenreactionen geben und deswegen zur Erkennung von Salzsäure im Magensaft empfohlen wurden; aber nur die nicht an Eiweiss und Verdauungsprodukte gebundene Salzsäure reagirt auf diese Farbstoffe, so dass dieselben als Reagentien auf „freie Salzsäure" in dem oben definirten Sinn dienen.

Folgende sind die zur Zeit am meisten gebrauchten Reactionen:

---

1) Honigmann u. v. Noorden, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 13 Heft 1.
2) Cahn u. v. Mering, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 39 S. 233.
3) Journ. of anat. and physiol. 1874 p. 274.
4) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 1 S. 152.
5) Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 23 S. 31 u. Bd. 27 S. 389.

a. Methylanilinviolett. Eine violette wässerige Lösung von Methylviolett wird durch filtrirten Magensaft, welcher freie Salzsäure enthält, blau gefärbt. Bei geringem Salzsäuregehalt dampft man nach Maly die zu prüfende Flüssigkeit mit der Farbstofflösung am Besten in einer Porcellanschale auf 1—2 Tropfen ein.

b. Tropäolin OO. Man nimmt 4—5 Tropfen einer gesättigten alkoholischen Lösung von Tropäolin, vertheilt sie durch Schütteln auf einem Porcellanschälchen, bringt den filtrirten Magensaft tropfenweise darauf, wartet einige Augenblicke, vertheilt dann die Mischung durch abermaliges Schütteln und erwärmt vorsichtig. Das Auftreten violetter bis lilarother Spiegel ist charakteristisch für freie Salzsäure (Boas).

c. Congopapier wird durch Magensaft, welcher freie Salzsäure enthält, blau gefärbt.

d. Phloroglucin-Vanillin. Ein Tropfen filtrirten Mageninhalts wird mit einem Tropfen einer Lösung, welche in 30 Theilen Spiritus 2 Th. Phloroglucin und 1 Th. Vanillin enthält, in einer Porcellanschale auf dem Wasserbad eingedampft. Bei Anwesenheit von freier Salzsäure entsteht Rothfärbung.

2) Qualitative Prüfung auf Milchsäure durch Farbenreactionen[1]).

1 CC. einer kaum gefärbten wässerigen Lösung von Eisenchlorid oder einer amethystblauen Lösung von Eisenchloridcarbol (hergestellt durch Mischung von 20 CC. Wasser, 10 CC. einer 2—5procentigen Carbollösung und einigen Tropfen Eisenchlorid) wird durch 2 CC. eines Mageninhalts gelb gefärbt, wenn derselbe Milchsäure enthält. Milchsaure Salze geben diese Reaction auch, das würde nicht schaden, doch rufen auch andere Stoffe, welche im Mageninhalt vorkommen können, (Phosphate, Alkohol, Zucker) Gelbfärbung hervor, so dass die Probe nicht eindeutig ist. Es empfiehlt sich deswegen den filtrirten Magensaft mit Aether auszuschütteln und den in Wasser gelösten Aetherrückstand für die Prüfung zu benutzen.

3) Qualitative Prüfung auf flüchtige Säuren.

Dieselben sind meist schon durch den Geruch nachzuweisen, andernfalls destillirt man vorsichtig den filtrirten Magensaft und prüft, ob das Destillat sauer reagirt.

4) Qualitative Prüfung auf saure phosphorsaure Salze nach Leo[2]).

Man vermengt im Uhrgläschen eine Probe des Mageninhalts mit

[1]) Uffelmann, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. 26 S. 441.

[2]) Centbl. f. d. med. Wissensch. Bd. 27 No. 26.

einer Messerspitze gepulvertem reinen kohlensauren Kalk, verrührt mit einem Glasstab und prüft mit Lackmuspapier die Reaction des Gemenges. Je nachdem die saure Reaction noch vorhanden, oder verschwunden ist, enthält der Mageninhalt saure Phosphate oder nicht.

Quantitative Bestimmung der Säuren im Mageninhalt.

290. 1) Der Gesammtacidität. Man titrirt 10 CC. des Mageninhalts mit $^1/_{10}$ Normalnatronlauge unter Benutzung von Lackmustinctur oder alkoholischer Phenolphtaleïnlösung[1]).

2) Der Gesammtsalzsäure nach C. Schmidt[2]) Diese umständliche Methode ist die einzige, welche vollständig einwandsfrei ist. In einer gemessenen Quantität der Flüssigkeit wird nach Filtriren derselben und Auswaschen die Salzsäure durch Salpetersäure und salpetersaures Silberoxyd gefällt, der Silberniederschlag abfiltrirt, ausgewaschen, getrocknet und nach § 207 bestimmt. Das Filtrat wird darauf im Porcellantiegel oder Schälchen zur Trockne verdunstet, der Rückstand verkohlt und in der Kohle und Asche Kalk, Magnesia, Kali, Natron, Schwefelsäure, Phosphorsäure nach den oben für die Aschen angegebenen Methoden bestimmt. Zur Bestimmung des Ammoniakgehalts wird eine gemessene Portion der Flüssigkeit mit Barytwasser deutlich alkalisch gemacht, aus tubulirter Retorte dann diese Mischung der Destillation unterworfen, während sich in der Vorlage etwas Salzsäure befindet. Man destillirt $^3/_4$ der Flüssigkeit ab, verdunstet das Destillat nach Zusatz von Platinchlorid auf dem Wasserbade zur Trockne, übergiesst den Rückstand mit Alkohol und Aether, spült damit den Platinsalmiak auf ein kleines gewogenes Filter, trocknet bei 100° nach genügendem Auswaschen mit Alkohol und Aether und wägt nach dem Erkalten über Schwefelsäure. Nach Tabelle II (siehe Anhang) berechnet man aus dem Platinsalmiak das Ammoniak, berechnet überhaupt alle gefundenen Säuren und Basen für 100 CC. untersuchte Flüssigkeit und vergleicht die Aequivalente der gefundenen Basen mit denen der Säuren, indem man zunächst die Schwefelsäure als an Kali, Natron gebunden betrachtet, dann die noch übrigen Basen-Aequivalente an Phosphorsäure als saure Phosphate PRH_2O_4 und an Salzsäure gebunden betrachtet. Die dann noch übrige Salzsäure ist als freie Säure anzusehen.

3) Der flüchtigen Fettsäuren, der Milchsäure und der Gesammtsalzsäure + saure Phosphate nach Cahn und v. Mering[3]).

---

[1]) Mit beiden Indikatoren erhält man aber verschiedene Werthe, weshalb es sich empfiehlt, bei vergleichenden Untersuchungen stets denselben anzuwenden.

[2]) Bidder u. Schmidt, die Verdauungssäfte und der Stoffwechsel 1852. S. 44.

[3]) a. a. O.

50 CC. filtrirter Mageninhalt werden über freiem Feuer vorsichtig destillirt, bis $^3/_4$ übergegangen ist, wieder auf 50 CC. aufgefüllt und nochmals $^3/_4$ abdestillirt.

Im Destillat werden die flüchtigen Säuren durch Titration bestimmt. Der Rückstand wird in demselben Gefäss mindestens 6 Mal mit je 500 CC. Aether gut ausgeschüttelt; dabei geht alle Milchsäure in den Aether und wird im Rückstand der vereinigten abdestillirten Aetherportionen ebenfalls durch Titration bestimmt. Die nach der Erschöpfung mit Aether verbleibende saure Flüssigkeit wird titrirt, dieser Werth giebt die Summe der Salzsäure und der sauren Phosphate. Letztere werden meist in so geringer Menge vorhanden sein, dass man das Resultat der Titrirung einfach auf Salzsäure beziehen kann.

4) Der Gesammtsalzsäure nach Sjöqvist[1]) mit einer Modification von v. Jaksch[2]).

Diese Methode beruht darauf, dass beim Eintrocknen von Magensaft mit Bariumcarbonat und Verkohlen des Rückstandes die organischen Säuren unlöslichen kohlensauren Baryt, die Salzsäure lösliches Chlorbarium liefern, aus dessen Menge die Quantität der Salzsäure berechnet werden kann. 10 CC. unfiltrirter Magensaft werden in einer Platinschale mit etwas Lackmustinctur versetzt, chlorfreier kohlensaurer Baryt eingetragen, bis die Flüssigkeit nicht mehr roth erscheint und nun das Ganze auf dem Wasserbad zur Trockne eingedampft, dann der Rückstand über freiem Feuer verbrannt, kurze Zeit geglüht, nach dem Erkalten wiederholt mit heissem Wasser extrahirt, filtrirt, das Filtrat auf dem Wasserbad etwas eingedampft, bis es etwa 100 CC. beträgt. Die Flüssigkeit wird mit verdünnter Schwefelsäure versetzt, der entstandene Niederschlag abfiltrirt, nach § 207 weiter behandelt. Die Quantität des gefundenen Bariumsulfat multiplicirt mit 0,3132 giebt die Menge der in 10 CC. Magensaft enthaltenen Salzsäure.

In Betreff der Einwände, welche dieser Methode gemacht sind, vergl. Leo, Deutsche medic. Wochenschr. Bd. 17 S. 1145.

5) Der sauren phosphorsauren Salze und der Säuren nach Leo[3]).

10 CC. des filtrirten Mageninhalts werden mit 5 CC. concentrirter Chlorcalciumlösung und einigen Tropfen alkoholischer Phenolphtaleïnlösung versetzt und mit $^1/_{10}$ Normallauge titrirt. Weitere 15 CC. des filtrirten Magensafts werden mit 1 gr trockenem, pulverisirtem, kohlen-

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 13 S. 1.

[2]) Monatsh. f. Chem. Bd. 10 S. 211.

[3]) Diagnostik der Krankh. der Verdauungsorgane. Berlin bei Hirschwald 1890 S. 115.

saurem Kalk verrieben und durch aschefreies Filter filtrirt. 10 CC. des Filtrat befreit man durch Durchleiten von Luft von Kohlensäure, versetzt sie mit 5 CC. Chlorcalciumlösung und einigen Tropfen Phenolphtaleïnlösung und titrirt. Die Differenz zwischen dem Resultat der ersten und der zweiten Titrirung giebt die den Säuren entsprechende Acidität an; die Hälfte der bei der zweiten Titrirung gebrauchten Menge Normallauge entspricht den vorhandenen sauren Phosphaten.

6) Der Gesammtsalzsäure nach J. Lüttke*).

Lüttke bestimmt in einem Mageninhalt einerseits die gesammte Chlormenge und andererseits diejenige Chlormenge, welche nach dem Verbrennen der organischen Antheile zurückbleibt: die Differenz beider Zahlen giebt dasjenige Chlor, welches als Gesammtsalzsäure vorhanden ist.

1) 10 CC. des gut durchgeschüttelten (nicht filtrirten) Mageninhalts werden nach Volhard (vergl. § 224) titrirt. In den seltenen Fällen, in denen die Flüssigkeit stark gefärbt ist, fügt man nach dem Silberzusatz 5—10 Tropfen Permanganatlösung zu.

2) 10 CC. des durchgeschüttelten Mageninhaltes werden in einer Platinschale (am Besten auf einer Asbestplatte) zur Trockne eingedampft. Den Rückstand verbrennt man über freier Flamme und zwar erhitzt man nur so lange, bis die Kohle nicht mehr mit leuchtender Flamme brennt. Sehr starkes und anhaltendes Glühen ist zu vermeiden. Die Kohle wird jetzt angefeuchtet, zerrieben und mit 100 CC. warmem Wasser behandelt. In dem Filtrat bestimmt man wieder nach Volhard den Chlorgehalt.

Prüfung auf Pepsingehalt und Energie der Verdauung, auf Labferment, auf fremde Beimengungen.

291. Um zu untersuchen, ob eine Flüssigkeit, die aus dem Magen stammt, verdauende Kraft besitzt, prüft man am Besten ihr Verhalten zu ausgewaschenem Blutfibrin. Man giesst eine Portion der klar filtrirten Flüssigkeit in ein Kölbchen, bringt eine kleine Flocke solchen Fibrins hinzu und lässt die Flüssigkeit längere Zeit bei 37—40° im Luftbade darauf einwirken, indem man in Zwischenräumen von mehreren Stunden beobachtet, ob eine theilweise oder völlige Lösung stattgefunden hat. Ist in 12 Stunden keine Einwirkung zu erkennen oder ist Fäulnissgeruch aufgetreten, so ist das Resultat ein negatives. Auch zur quantitativen Schätzung der verdauenden Kraft ist diese Methode noch

*) Deutsch. med. Wochenschr. 1891 S. 1325 und die eben erschienene Monographie: Martius u. Lüttke: die Magensäure des Menschen, Stuttgart, Enke 1892 S. 101. Hier auch eine kritische Besprechung der einzelnen Methoden und eine umfassende Literaturübersicht.

die brauchbarste, indem die verdauende Kraft ihren Ausdruck in der Geschwindigkeit der Lösung des Fibrin findet. Durch Anwendung fein zerhackten Fibrins und Bewegung des Gemenges in liegender Flasche um deren Längsachse durch einen Motor mit bestimmter Geschwindigkeit kann man noch genauere Vergleiche der verdauenden Energie mehrerer Flüssigkeiten ausführen.

Die älteren Versuche wurden in der Weise angestellt, dass in eine abgemessene Menge der zu untersuchenden Flüssigkeit eine abgewogene Portion coagulirtes und in Würfel von bestimmter Grösse zerschnittenes Hühnereiweiss gebracht, eine bestimmte Zeit bei Bluttemperatur damit digerirt, dann abfiltrirt, gewaschen und das ungelöste Eiweiss getrocknet und gewogen wurde. Durch einen gesonderten Versuch wurde in einer Portion dieser Eiweisswürfel der Gehalt an fester Substanz bestimmt.

Besser würde das coagulirte Eiweiss zu diesen Versuchen sich eignen, wenn man es in kleine Stückchen zerschneiden oder zerreiben würde, um die Berührungsfläche möglichst zu vergrössern. Diese Versuchsweise wäre ganz gut, wenn es nicht sehr starker Energie des Magensaftes bedürfte, um eine hinreichende Quantität coagulirtes Eiweiss zu lösen. Fibrin löst sich viel leichter, giebt also schnellere und schärfere Resultate. Caseïn eignet sich weniger zu Verdauungsversuchen, da es durch sehr verdünnte Salzsäure sehr leicht gelöst wird. Da Fibrin, wenn auch erst nach längerer Zeit, durch verdünnte Salzsäure allmälig gelöst werden kann, empfiehlt es sich, stets einen Controlversuch mit Säure allein zu machen. Das Nähere für derartige Versuche findet man in Bruecke's[1]) Arbeiten erläutert.

Da der Magensaft oder erbrochene Massen zuweilen reichlich Pepsin enthalten, aber wegen mangelnder freier Salzsäure oder Milchsäure nicht verdauen können, ist der Pepsingehalt erst dann durch den eben geschilderten Verdauungsversuch zu ermitteln, nachdem man der Flüssigkeit das gleiche Volumen einer Mischung von 8 CC. reiner rauchender Salzsäure und 992 CC. Wasser zugesetzt hat. Die Flüssigkeit erhält dabei, wenn sie neutral war, den ungefähren Gehalt von 0,1 p. M. ClH, und wenn auch die Verdünnung die Verdauungsenergie etwas mindert, ist es doch nicht anders leicht zu machen, kleine Portionen Salzsäure ohne Nachtheil zuzufügen und die Verzögerung durch die Verdünnung ist nicht zu vermeiden.

Da nach v. Wittich's[2]) Entdeckung das Pepsin gefällt und unwirksam wird, wenn viel Fibrin und Albumin schon verdaut und die freie Säure zur Sättigung der Peptone verbraucht ist, so wird es nöthig,

---

1) Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wissensch. 1859 Bd. 37 S. 14.

2) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 5 S. 435.

sobald grössere Mengen durch eine hinreichend concentrirte Pepsinlösung verdaut werden sollen, derselben von Zeit zu Zeit wieder einige Tropfen passend verdünnte Salzsäure hinzuzufügen.

Grünhagen[1]) hat zur Messung des Pepsingehaltes in Verdauungsflüssigkeiten folgende vergleichende Methode angegeben, die von v. Wittich und von Ebstein und Grützner empfohlen wird. Ausgewaschenes Blutfibrin lässt man in Salzsäure von 0,2 pCt. zur steifen Gallert quellen, presst dann gut ab und bringt gleiche Mengen davon auf Filter, die sich auf Trichtern über calibrirten Cylinderglasröhren befinden, stellt dieselben dann im Luftbade bei Brutwärme auf, giesst dann die zu prüfenden Lösungen auf die gequollenen Fibrinportionen; es giebt dann die Geschwindigkeit, mit welcher das Fibrin gelöst wird und die Flüssigkeit durch das Filter läuft, ein Mass für die verdauende Einwirkung der Lösungen.

Ueber die Darstellung künstlicher Verdauungsflüssigkeiten vergl. § 195.

Eine colorimetrische Methode zur Bestimmung des Pepsingehaltes hat Grützner[2]) gegeben, es muss die weitere Erfahrung über ihre Anwendbarkeit entscheiden.

Schütz und Huppert[3]) haben gefunden, dass unter bestimmten Verhältnissen die bei der Verdauung gebildeten Peptonmengen proportional sind den Quadratwurzeln aus den Pepsinmengen. Ueber die von Schütz darauf hin gegründete Methode, den activen Pepsingehalt eines Magensaftes zu bestimmen, siehe das Original.

Zur Prüfung auf Labferment versetzt man 10 CC. frischer Milch mit 1—2 CC. des filtrirten und genau neutralisirten Magensaftes. Ist Lab zugegen, so soll die Milch bei Körpertemperatur in 10—20 Minuten ohne Aenderung der Reaction gerinnen.

Sehr häufig enthalten ausgebrochene Massen bei Magenkatarrh, Cholera u. s. w. Albumin durch Erhitzen gerinnend und durch Salpetersäure gefällt. Beimengung von Galle zum Erbrochenen ist die häufigste Erscheinung bei Erbrechen nach Vomitiven, Puerperalfieber, Urämie u. s. w. Die Gallenfarbstoffe weist man durch Salpetersäure, die Gallensäuren durch Zucker und concentrirte Schwefelsäure nach, wie es in den §§ 152 und 141 ausführlich beschrieben ist.

Auch Beimengung von Blut ist oft in erbrochenen Massen zu finden. aber nur bei ganz sistirter Verdauung oder profuser Magenblutung tritt unzersetztes Blut im Erbrochenen auf, meist ist es in eine kaffeesatz-

[1]) Arch. f. d. ges. Physiol. Bd. 5 S. 203.
[2]) Ebendas. Bd. 8 S. 452.
[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 9 S. 577.

artige Masse durch Einwirkung der freien Säure des Magensaftes verwandelt. Diese Massen enthalten kein Hämoglobin, sondern Hämatin; bringt man sie mit etwas kohlensaurem Natron oder Aetznatron gelöst und filtrirt vor den Spectralapparat, so erkennt man bei genügender Verdünnung den in § 191 geschilderten charakteristischen Absorptionsstreif; viel besser erkennbar ist nach Reduction mit Schwefelammonium der dunkele Absorptionsstreif des Hämochromogen. Der Magen kann aber auch andere Farbstoffe in den Speisen erhalten haben, welche bei dieser Untersuchung stören, auch reichlicher Gallegehalt im Erbrochenen ist störend. Um diese Farbstoffe zu entfernen, erwärmt man die Flüssigkeit mit etwas verdünnter Salpetersäure, filtrirt, löst den Niederschlag in sehr verdünnter Natronlauge und prüft im Spectrum.

Die Untersuchung des Erbrochenen oder Mageninhaltes auf Zucker, Harnstoff, Ammoniak wird in der Weise ausgeführt, wie es für seröse Flüssigkeiten in den §§ 263 und 264 angegeben ist.

Das Pankreassecret.

292. Das Secret des Pankreas ist characterisirt durch drei in ihm im normalen Zustande stets vorhandene Fermente, von denen das eine sehr kräftige diastatische Wirkung zeigt, das zweite, sehr leicht veränderliche und deshalb noch sehr wenig gekannte Ferment Fette in Säuren und Glycerin spaltet und das dritte identisch ist mit Trypsin (vergl. oben § 197). Das diastatische Ferment zerlegt Amylum oder Glycogen in der nämlichen Weise zu Dextrinen, Maltose und schliesslich Traubenzucker wie das Ferment des Speichels. Diastatische Fermente sind in den Wasserauszügen der verschiedensten Organe des Menschen und vielleicht aller bisher untersuchten Thiere gefunden, aber von keinem Organ hat man gleich intensive Wirkung gesehen als vom Pankreas und seinem Secret. Schon bei Stubentemperatur ist in wenigen Secunden nach der Mischung einiger Tropfen des Kaltwasserauszugs der Drüse oder des Secrets mit etwas Stärkekleister durch die Trommer-sche Probe Maltose nachweisbar, Traubenzucker tritt erst spät auf. Bei 30—45° geht diese Umwandlung wie mit dem Speichel noch schneller vor sich.

Das in Wasser lösliche Trypsin ist, soviel bekannt, nur dem Pankreas eigen, und man hat wohl ein Recht bei niederen Thieren ein Organ, welches ein Secret in den Darm ergiesst und dessen Wasserauszug die fermentative Wirkung des Trypsins zeigt, als Pankreas zu bezeichnen. Im ganz frischen Pankreas vom Hunde oder Rind scheint dies Ferment noch nicht vorhanden zu sein, sich aber im Verlaufe von ein paar Stunden von selbst, und durch geringfügige Einwirkung auch

viel schneller zu bilden. Man prüft auf Trypsin am besten in nahezu neutraler Lösung mit frisch dargestelltem, mit Wasser gewaschenen und feingehackten Fibrin. Dasselbe wird von Trypsinlösung schnell gelöst unter Bildung zunächst von Serumglobulin oder einer demselben sehr ähnlichen Globulinsubstanz, Propepton, Pepton, Leucin, Tyrosin, Proteïnochromogen, NH_3, CO_2 u. s. w. Die Fällung der Globulinsubstanz durch Magnesiumsulfat, Wiederauflösung des Niederschlags bei Wasserzusatz, Coagulation beim Erhitzen, ferner die Biuretreaction der durch Kochen von coagulablen Verdauungsproducten befreiten Lösung, welche schon in der Kälte eintretend die Anwesenheit von Propepton oder Pepton angiebt, endlich die Krystallisation von Leucin und Tyrosin aus dem heissen Alkoholauszug der zum Syrup eingedickten Verdauungsflüssigkeit nach Verdunsten des Alkohols, und die Probe mit Millon's Reagens, sowie die Bildung von Tyrosinsulfosäure nach Piria (vergl. oben § 129) geben den Nachweis der hauptsächlichsten Umwandlungsproducte, welche das Fibrin besonders schnell bei 40°, aber auch bei 20° in ein paar Stunden liefert. Das Proteïnochromogen (Tryptophan, auch Bromkörper genannt) ist ein noch sehr wenig bekannter Stoff, welcher bei jeder tiefer gehenden Zersetzung des Eiweiss (Fäulniss, Pepsin- und Trypsinverdauung, Einwirkung von Barytwasser, von Schwefelsäure) auftritt. Gegen Fällungsmittel verhält es sich im Ganzen wie Pepton; es ist mit den Wasserdämpfen nicht flüchtig, wird durch Kochen nicht zerstört. Mit Chlor- und Bromwasser giebt es eine Farbenreaction, am Besten benutzt man Bromwasser, welches man sehr vorsichtig zusetzen muss, da bei Anwesenheit kleiner Mengen von Proteïnochromogen auch der geringste Ueberschuss von Bromwasser die Reaction vereitelt. Die Reaction besteht in dem Auftreten eines roth violett gefärbten Niederschlags, Proteïnochrom genannt. Genaueres über diese Körper siehe in der Arbeit von Stadelmann Zeitschr. f. Biolog. Bd. 26 S. 491, wo auch die Literatur angegeben, vergl. auch H. Winternitz, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 16 S. 462 Fussnote.

Für die Untersuchung auf das Fette spaltende Ferment ist völlig säurefreies Fett zu benutzen. Man löst am besten Butter oder Mandelöl, Olivenöl in Aether, schüttelt diese Lösung mit verdünnter Sodalösung im Scheidetrichter, giesst die klare Aetherlösung ab, wäscht sie mit Wasser und gewinnt das reine Fett durch Abdestilliren des Aethers. Man mischt durch starkes Umschütteln ungefähr gleiche Volumina des Fettes und der zu prüfenden Flüssigkeit zur feinen Emulsion, lässt unter öfterem Umschütteln 2—6 Stunden bei 40° stehen. Um nun zu untersuchen, in wie weit fette Säuren abgespalten sind, fügt man zur Emulsion verdünnte Sodalösung und Aether, schüttelt anhaltend aber ohne

zu heftige Stösse um, lässt einige Zeit ruhig stehen, so dass der Aether sich klärt, giesst diese ätherische Lösung der noch unzersetzt gebliebenen Fette ab, wäscht die wässerige alkalische Flüssigkeit noch mehrmals mit Aetherportionen, fügt dann verdünnte Schwefelsäure bis zur stark sauren Reaction hinzu und schüttelt die saure Flüssigkeit mit neuen Aetherportionen aus. Die klar abgegossenen, nöthigenfalls filtrirten Aetherauszüge geben beim Verdunsten die durch das Ferment aus dem Fett in Freiheit gesetzten Säuren, deren nähere Untersuchung und Trennung nach § 34—36 auszuführen ist.

Da die Pankreasdrüse und ihr Secret sehr grosse Neigung haben, in Fäulniss überzugehen, durch die Fäulniss aber die sämmtlichen genannten fermentativen Umwandlungen gleichfalls ausgeführt werden, ist es zweckmässig, bei längere Zeit fortgesetzten Versuchen, um Verwechselung zu vermeiden, antiseptische Zusätze zu machen. Es sind hierzu besonders Salicylsäure und Thymol empfohlen. Ist aber die Flüssigkeit stark salicylsäurehaltig, so wirkt diese Säure allmälig störend auf die Trypsinverdauung, enthält sie weniger von der Säure, so tritt, wenn auch verspätet, doch Fäulniss ein. Durch Zusatz von Quecksilberchlorür als sehr feines Pulver und häufiges Zusammenschütteln wird die Fäulniss vollständig abgehalten und die Fibrinverdauung durch Trypsin sowie die Spaltung der Fette nicht bemerkbar beeinträchtigt.*) Die diastatische Einwirkung der Pankreasdrüse und ihres Secrets ist so intensiv, dass eine Verwechselung mit Fäulnisswirkung ausgeschlossen ist auch ohne Zusatz eines Antisepticum. Lässt man die Versuche der Eiweissverdauung und Fettspaltung nur ein paar Stunden dauern, so kann gleichfalls kaum Verwechselung mit Fäulniss vorkommen, wenn die Fermentwirkungen kräftige sind.

Mit Ausnahme der Untersuchung auf die Wirksamkeit des Secretes bezüglich der Umwandlung der Albuminstoffe, des Amylum und der Fette wird jede qualitative und quantitative Analyse dieses Secretes nach den Methoden auszuführen sein, wie sie in dieser Abtheilung für die serösen Flüssigkeiten beschrieben sind.

Die bei Thieren selten vorkommenden Concremente im pankreatischen Gange werden in derselben Weise wie die Speichelsteine untersucht. Sie bestehen meist aus kohlensaurem Kalk.

Untersuchung der Galle.

Zusammensetzung.

293. Die Galle stellt im normalen Zustande bei Menschen und Thieren eine schleimige, völlig klare braune, gelbbraune, grüne oder

*) Wassilieff, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 112.

bläulich grün gefärbte, bitter und aromatisch schmeckende Flüssigkeit von neutraler oder schwach alkalischer Reaction dar, die durchaus keine beim Erhitzen gerinnende Albuminstoffe enthält, mit Alkohol einen reichlichen in Wasser schwer und unvollständig wieder löslichen Niederschlag von Gallenmucin mit etwas Farbstoff und Spuren von Diastase giebt, im Wesentlichen aber eigenthümliche Säuren an Natron oder Kali gebunden enthält, die ausser in Galle und Darminhalt sich im normalen Zustande im ganzen Körper nicht finden. Bei Raubthieren ist es meist Taurocholsäure an Natron gebunden, welche die Hauptmasse des festen Rückstandes der Galle darstellt, bei Rindern ist daneben glycocholsaures Natron vorhanden. Die Galle vom Menschen enthält neben wenig Taurocholsäure viel Glycocholsäure. Beim Schweine und bei Vögeln finden sich eigenthümliche, noch nicht hinreichend untersuchte Gallensäuren. Lecithin und Cholesterin sind in jeder normalen Galle gefunden, die darauf untersucht ist, auch ein geringer Gehalt an Fetten und Seifen scheint in jeder Galle zu sein; die Farbstoffe, die ebenfalls in jeder Galle auftreten, zeigen manche Verschiedenheiten. Beim Menschen, ebenso bei den meisten fleischfressenden Säugethieren ist, wie es scheint, das Bilirubin der hauptsächliche färbende Bestandtheil. Im Hungerzustande zeigt sich stets grüne Färbung der Galle durch Biliverdin. Neben diesen organischen Körpern enthält die Galle stets phosphorsaures Natron, Chlornatrium, etwas phosphorsauren Kalk und Eisenoxyd, auch oft Spuren von Kupfer.

Sehr häufig finden sich in der Gallenblase beim Menschen, auch nicht selten bei Thieren Concremente, die am Häufigsten aus Cholesterin und Bilirubinkalk im Wesentlichen bestehen; aber auch andere Concremente sind zuweilen in der Gallenblase gefunden.

Pathologische Beimengungen wie Albumin, veränderter Blutfarbstoff, Zucker, Harnstoff, kommen öfters vor, auch kann durch Entzündung und Verstopfung der Gallenblase eine Ansammlung von Flüssigkeit in der Gallenblase zu Stande kommen, die gar keine Galle mehr enthält.

So lange die Galle Schleim enthält, zersetzt sie sich schnell, indem ihre Reaction stärker alkalisch und der Geruch faulig wird. Bei dieser Fäulniss zerfällt auch die Taurocholsäure leicht unter Bildung von Cholalsäure, welche in der frischen Galle noch nie gefunden ist. Wird der Schleim der Galle, der übrigens völlig klar darin gelöst ist, durch Alkohol ausgefällt, so zeigt die Flüssigkeit keine Neigung zur Zersetzung mehr, auch nicht nach Verdunsten des Alkohol. Auch die Gallenfarbstoffe erfahren bei der Fäulniss der Galle chemische Ver-

änderungen, doch bleiben sie auch in fauler Galle durch Salpetersäure lange Zeit nachweisbar (vergl. § 152).

Verhalten der normalen Galle zu den wichtigeren Reagentien.

294. Die Galle ist mit Wasser in jedem Verhältnisse mischbar, giebt dagegen mit Alkohol, wie oben gesagt, einen reichlichen flockigen, beim Trocknen sehr schwindenden Niederschlag von Mucin. Verdampft man sie zur Trockne im Wasserbade, so hinterlässt sie einen harzigen, spröden, beim Erwärmen erweichenden, sehr hygroskopischen Rückstand. Alkalien verändern die Farbe der Galle, aber bewirken keine Niederschläge, während diese durch Säuren reichlich entstehen. Fügt man wenig Essigsäure zur Galle, so wird zunächst nur der Schleim gefällt, ebenso beim Zusatz von einigen Tropfen sehr verdünnter Mineralsäuren, durch Zusatz von grossen Säuremengen enstehen Niederschläge von Glycocholsäure zunächst in Flocken, die bald zur harzigen Masse zusammenbacken; in concentrirter Schwefelsäure löst sich dieser Niederschlag wieder auf mit bräunlicher Farbe und allmälig sich ausbildender starker grünlicher Fluorescenz. Chlorbarium bringt in der Galle nur dann einen Niederschlag hervor, wenn sie stark alkalisch geworden ist und auch bereits Cholalsäure enthält, dagegen geben Bleizuckerlösung und Bleiessig und überhaupt viele Salze schwerer Metalle unlösliche Niederschläge, die aus Verbindungen der Gallensäuren mit diesen Metallen bestehen.

Fügt man zu einer Galle zunächst Bleizuckerlösung, so wird dadurch hauptsächlich die Glycocholsäure gefällt, nach völliger Ausfällung mit diesem Reagens giebt Bleiessig noch einen Niederschlag, der hauptsächlich taurocholsaures Bleioxyd enthält. Zur völligen Ausfällung dieser Säuren ist Zusatz von etwas Ammoniak ausser dem Bleiessig erforderlich.

Dampft man die Galle im Wasserbade zur Trockne ein, extrahirt den Rückstand mit absolutem Alkohol, filtrirt, concentrirt die Lösung im Wasserbade, bringt sie in eine Flasche und fällt durch einen grossen Ueberschuss von Aether, so entsteht zunächst ein harziger Niederschlag, der sich in einigen Stunden oder Tagen in schöne Krystallnadeln verwandelt. Es krystallisiren nämlich hierbei glycocholsaures und taurocholsaures Alkali aus (letzteres z. B. rein aus der Galle des Hundes, der Katze, des Marder), in der ätherischen Lösung bleiben Cholesterin, Lecithin und Fette, welche man durch Verdunsten dieser Lösung zum Theil krystallisirt erhalten kann, gelöst.

Bei der trocknen Destillation des Verdampfungsrückstandes der

Galle erhält man sehr reichlich ein stark aromatisch riechendes flüchtiges Oel.

Die Schweinegalle giebt mit krystallisirtem schwefelsauren Natron in hinreichender Quantität versetzt einen flockigen Niederschlag von hyoglycocholsaurem Alkali; der Niederschlag ist in Wasser wieder leicht löslich; andere Gallensäuren geben diesen Niederschlag nicht, man kann also Schweinegalle hierdurch von anderer Galle unterscheiden.

Schüttelt man die Galle von Menschen oder fleischfressenden Thieren mit Chloroform, so geht ein Theil des Cholesterin und Bilirubin in die Lösung über und scheidet sich krystallinisch aus, wenn man die Chloroformlösung abhebt und verdunsten lässt.

Jede Galle, welche Gallensäure enthält, giebt mit Zucker und concentrirter Schwefelsäure die in § 141 geschilderte Pettenkofer'sche Reaction. Es kommen, wenn auch sehr selten, Fälle vor, in denen bei der Section aus der Gallenblase entnommene dunkel oder hell gefärbte menschliche Gallen keine Purpurfärbung mit Zucker und Schwefelsäure geben und eben auch keine Gallensäuren mehr enthalten.

Nach Méhu*) werden Gallensäuren, Gallenfarbstoff, Mucin durch Ammoniumsulfat quantitativ ausgefällt.

Untersuchung der Galle auf Albumin, Blutfarbstoff, Zucker, Harnstoff, Leucin, Tyrosin.

295. Zur Untersuchung der Galle auf Albumin wird dieselbe mit verdünnter Essigsäure vorsichtig neutralisirt und dann zum Kochen erhitzt; ist Albumin zugegen, so wird es dabei coagulirt. Statt dessen kann man die Galle durch Ueberschuss von Alkohol fällen, den Niederschlag abfiltriren, auswaschen und mit starker Essigsäure ausziehen, welche das Mucin ungelöst lässt, aber die coagulirten Eiweissstoffe löst. Man verdunstet die filtrirte essigsaure Lösung auf kleines Volumen und fügt dann concentrirte Glaubersalzlösung hinzu; hatte die Essigsäure Albuminstoffe ausgezogen, so entsteht ein flockiger Niederschlag. Da Salpetersäure aus der Galle Gallensäuren fällt, kann man sie zum Nachweis des Albumin hier nicht direct benutzen.

Um in einer Galle Spuren von Zucker nachzuweisen, entfärbt man sie wenigstens theilweise am Besten mit Blutkohle, filtrirt und prüft nun mit Trommer'scher oder Boettcher'scher Probe nach § 52.

Da die Galle bei Bluttemperatur binnen kürzester Zeit nicht allein die Blutkörperchen auflöst, sondern auch das Oxyhämoglobin in Hämatin und Albuminstoffe unter Abscheidung des grössten Theiles

*) Journ. de pharm. et de chim. Août 1878.

beider als unlöslichen Niederschlag umwandelt, kann man Blutextravasate nur dann in der Gallenblase unverändert finden, wenn keine Galle da ist. Nicht allzu selten finden sich dagegen krümliche Niederschläge in der Galle der Gallenblase, welche aus derartig verändertem Blutfarbstoff bestehen. Löst man dieselben in etwas verdünnter Natronlauge, so giebt die Lösung im Spectrum den § 191 beschriebenen Absorptionsstreifen, nach Zusatz von Schwefelammonium die Absorption des Hämochromogen (vgl. § 191 Fig. 1, No. 3.)

Um auf Harnstoff zu prüfen, verdunstet man am Besten die Galle zur Trockne, extrahirt den Rückstand mit wenig Alkohol und fällt mit grossem Ueberschuss von Aether. Man giesst nach einiger Zeit die Lösung vom Niederschlage klar ab, destillirt von derselben den Aether ab und verdunstet zur Trockne. Den Rückstand nimmt man in wenig Wasser auf, filtrirt und bestimmt in dieser Lösung den Harnstoff nach der oben § 77 beschriebenen Methode. Die einfache Titrirung mit salpetersaurem Quecksilberoxyd giebt keine brauchbaren Werthe.

Zur Auffindung von Leucin und Tyrosin in der Galle fällt man dieselbe mit Bleiessig und etwas Ammoniak völlig aus, filtrirt, fällt in dem Filtrate durch Schwefelwasserstoffgas das Blei aus, filtrirt, dampft die Flüssigkeit ein und trennt im Rückstande nach der § 93 S. 132 unten beschriebenen Weise Leucin und Tyrosin.

Die anorganischen Stoffe der Galle.

296. Die Gallensäuren sind in der Galle fast immer hauptsächlich an Natron gebunden. Im Uebrigen ist noch von Interesse der Gehalt der Galle an Eisenoxyd und Kupfer. Fällt man die Galle durch grossen Ueberschuss von Alkohol, so findet sich das Eisen im Niederschlage ohne Zweifel an Phosphorsäure gebunden; in welcher Verbindung das so häufig vorkommende Kupfer sich befindet, ist noch nicht ermittelt. Wenn die Galle, wie es bei der aus menschlichen Gallenblasen entnommenen zuweilen der Fall ist, sauer reagirt, wird durch Alkohol saures phosphorsaures Alkali gefällt. Die Untersuchung der anorganischen Stoffe der Galle erfordert zunächst Trennung der in Aether löslichen Substanzen von den übrigen, ehe die Veraschung ausgeführt wird, weil nur in dieser Weise die Einwirkung der bei Verbrennung des Lecithin entstehenden Phosphorsäure auf die anorganischen Bestandtheile der Galle vermieden wird. Ausserdem ist aber auch Trennung der in absolutem Alkohol löslichen von den darin unlöslichen Stoffen erforderlich, weil bei der Veraschung des taurocholsauren Alkali schwefelsaures Salz gebildet werden kann; das in der Galle präformirt enthaltene schwefelsaure Salz wird vom Alkohol nicht gelöst.

Man behandelt daher die Galle nach dem Trocknen mit Alkohol und den Rückstand vom Alkoholauszug mit Aether so wie es im folgenden Paragraphen beschrieben ist, verascht dann getrennt den Alkohol- und den Aetherextractrückstand sowie die vom Alkohol nicht gelösten Stoffe und analysirt die Aschen nach den in den §§ 200—215 gegebenen Methoden.

Bestimmung des Gehaltes der Galle an festen Stoffen, Mucin, Gallensäuren, Fetten, Seifen, Cholesterin, Lecithin, Gallenfarbstoffen.

297. Da die Galle der meisten Thiere sowie die des Menschen über 5 pCt. feste Substanzen enthält, ist man recht wohl im Stande, in einer Quantität von etwa 10—30 CC. dieser Flüssigkeit die wichtigeren Bestandtheile quantitativ zu bestimmen. Man ermittelt zunächst durch Wägung im Pyknometer das spec. Gewicht der Flüssigkeit und misst dann zwei Portionen der Galle ab, die eine, höchstens 10 CC., zur Bestimmung der festen Stoffe und der Summe der anorganischen Stoffe, die andere mindestens zu 5—30 CC., wenn hinreichende Quantität zu Gebote steht, zur Bestimmung der einzelnen Bestandtheile. Die erste Portion wird erst auf dem Wasserbade, dann im Luftbade bei 100—105 ° sorgfältig getrocknet und nach Erkalten des sehr hygroskopischen Rückstandes über Schwefelsäure bedeckt gewogen, dann verascht und die Quantität der Asche bestimmt, welche Bestimmung ein genaues Resultat nicht wohl ergeben kann (vergl. § 296). Die andere grössere Portion wird mit dem mehrfachen Volumen Alkohol gefällt, filtrirt durch gewogenes aschefreies Filter, der Niederschlag zuerst mit Alkohol gewaschen und die alkoholischen Filtrate vereinigt, dann der Niederschlag mit Essigsäure, dann mit essigsäurehaltigem Wasser gewaschen, auch dieser Auszug aufgesammelt, das Filter mit dem ungelösten Mucin, phosphorsaurem Eisen und etwas Farbstoff getrocknet, gewogen, dann unter Zusatz einer kleinen gewogenen Quantität Bariumnitrat verascht und die Asche gewogen. Die Alkoholauszüge werden nun bei mässiger Wärme auf dem Wasserbade verdunstet, der Rückstand mit absolutem Alkohol extrahirt und mit absolutem Alkohol gewaschen. Was der Alkohol nicht löst, wird mit dem essigsauren Auszug vereinigt, verdunstet, getrocknet, gewogen uud dann die Asche davon bestimmt (die Asche enthält z. B. die schwefelsauren Salze, auch wohl Chloralkalimetall). Der Alkoholauszug wird wieder verdunstet auf kleines Volumen, dann mit überschüssigem Aether gefällt, so lange Niederschlag entsteht, und das Ganze mehrere Tage stehen gelassen, damit die gallensauren Salze womöglich krystallisiren. Dann wird die Aetherlösung abgegossen oder abfiltrirt, der Niederschlag nach dem fol-

genden Paragraphen untersucht, die Aetheralkohollösung nach Abdestilliren des Aethers durch vorsichtiges Verdunsten auf dem Wasserbade von den Resten von Alkohol und Aether befreit, der über Schwefelsäure mit der Luftpumpe getrocknete Rückstand schnell mit alkohol- und wasserfreiem Aether behandelt und erschöpft, abfiltrirt unter Bedeckung des Filtrats, die im Aetherauszuge enthaltenen Fette, Cholesterin, Lecithin bestimmt, wie es in § 268 angegeben ist, die vom absoluten Aether nicht gelösten Stoffe: Seifen, Harnstoff uud Spuren von Chlornatrium, getrocknet und gewogen. Der Harnstoff wird in einer besonderen Portion nach der § 77 beschriebenen Methode bestimmt werden müssen.

Es sind mehrere Versuche gemacht, die Farbstoffe in der Galle colorimetrisch entweder mit dem Spectroskop oder ohne dasselbe zu bestimmen, da aber die Galle, auch frisch secernirte, neben Bilirubin sehr verschiedene Quantitäten Biliverdin enthalten kann und man nicht im Stande ist, den einen dieser Farbstoffe aus der Lösung zu entfernen, ohne dass vom andern gleichfalls ein Theil derselben entzogen wird, können brauchbare Resultate auf diesem Wege noch nicht gewonnen werden.

Bestimmung des Gehaltes an Glyco- und Taurocholsäure im Alkoholextracte der Galle.

298. Der Niederschlag, welcher durch grossen Ueberschuss von Aether in dem concentrirten alkoholischen Auszug der Galle erhalten wird (vergl. vorigen Paragraphen), dient zur Bestimmung des Gehaltes an Glyco- und Taurocholsäure. Neben gallensauren Alkalien kann derselbe auch noch Salze fetter Säuren und der Oelsäure sowie Chlorkalium oder Chlornatrium enthalten. Steht hinreichende Quantität des Niederschlags zu Gebote, so wird seine Untersuchung am besten in der Weise geschehen, dass er zunächst in Wasser gelöst, das Volumen der Lösung gemessen, dasselbe in 3—5 gemessene Portionen getheilt wird und diese Portionen in folgender Weise zu getrennten Untersuchungen dienen. Die erste Portion wird auf dem Wasserbade zur Trocke verdampft, der Rückstand im Luftbade bei 105—110° getrocknet, über Schwefelsäure erkalten gelassen, bedeckt gewogen, dann verascht, die Menge der Asche, des Chlorgehaltes, des Kalium und Natrium bestimmt (Lösen der Asche in Wasser, Fällen mit Salpetersäure und Silbernitrat, Ausfällung des Filtrats mit Salzsäure und Bestimmung der Chlormetalle, vergl. §§ 201, 204 und 207). Die zweite Portion dient zur Bestimmung des Schwefelgehaltes (Berechnung der Taurocholsäure) und wird in einer Platin- oder Silberschale mit Aetzkali versetzt eingedampft, dann Salpeter zugesetzt und erhitzt nach § 23. Auch die von Külz

hierfür empfohlene Carius'sche Methode der Schwefelbestimmung ist meist hier gut anzuwenden.

Die dritte abgemessene Portion der Lösung dient zur Bestimmung der Glycocholsäure, Taurocholsäure und der fetten Säuren. Man kann sie zunächst mit reiner geglühter Thierkohle entfärben, die Kohle gut auswaschen, die Filtrate auf dem Wasserbade sehr concentriren, mit absolutem Alkohol in mässiger Menge mischen und nun nach Messung des Volumens der Lösung mit dem Wild'schen oder dem Halbschattenapparate die Circumpolarisation bestimmen. Hat bei dieser Bestimmung ein Verlust der Flüssigkeit stattgefunden, so wird das noch vorhandene wieder gemessen, dann durch Verdunsten der Alkohol verjagt, der Rückstand mit Wasser in ein unten dick zugeschmolzenes Rohr aus Kaliglas gebracht, in welches mindestens 5 gr krystallisirter Aetzbaryt trocken vorher eingebracht war, mit Wasser sorgfältig nachgespült (das Eingiessen muss durch ein tief hinabreichendes Trichterrohr geschehen), dann das Glasrohr 1 Decimeter über dem Flüssigkeitsniveau zugeschmolzen und nach Erkalten und gutem Umschütteln das Glasrohr 10 bis 12 Stunden im Oelbade bei 110—120° erhalten. Dann wird das Glasrohr mit Feile und Sprengkohle vorsichtig geöffnet, die Flüssigkeit in ein Becherglas ausgegossen, mit warmem Wasser nachgespült, die Lösung warm mit einem Strom von Kohlensäure behandelt, bis kein Bariumcarbonat mehr gefällt wird, dann siedend heiss im Wasserbadtrichter filtrirt und mit heissem Wasser so lange ausgewaschen, als noch cholalsaurer Baryt in das Filtrat übergeht. Der Rückstand besteht dann nur noch aus den Barytverbindungen von fetten Säuren und Oelsäure neben viel Bariumcarbonat; durch Schütteln des Niederschlags mit Aether nach Uebersättigen mit Salzsäure erhält man im Aether die fetten Säuren und Oelsäure, wenn sie überhaupt vorhanden sind, und sie bleiben nach dem Verdunsten des Aethers zurück. Die heissen Wasserfiltrate enthalten cholalsauren Baryt neben Glycocoll, Taurin u. s. w.; sie werden auf kleines Volumen abgedampft, ohne den Niederschlag abzufiltriren, mit Aether und Salzsäure versetzt und offen einige Tage zur Verdunstung des Aethers stehen gelassen. Dann wird durch gewogenes Filter die Cholalsäure abfiltrirt, gewaschen, getrocknet bei 120° und gewogen. Die abfiltrirte Lösung kann nach Entfernung des Barium durch Aetzammoniak und kohlensaures Ammoniak noch zur nochmaligen Bestimmung des Schwefelgehaltes benutzt werden.

Kennt man den Gehalt an Schwefel, so wird daraus die Taurocholsäure berechnet, aus dieser berechnet man die bei ihrer Spaltung entstehende Cholalsäure, 100 Thl. Taurocholsäure geben 72,22 Thl. Cholalsäure. Zieht man dann diesen Werth von der oben gefundenen

Cholalsäure ab, so würde der Rest von Cholalsäure, der übrig bleibt, als Glycocholsäure zu berechnen sein und nach der Formel entsprechen 100 Thl. Cholalsäure 113,98 Thl. Glycocholsäure.

In der oben vorgeschriebenen Untersuchung der Circumpolarisation bietet sich nun für diese Bestimmung eine gute Controle für die Analyse. Ist nämlich a die beobachtete Drehung in Graden für Natriumlicht bei 0,1 M. langer Schicht, m der aus dem schwefelsauren Baryt berechnete Gehalt an Taurocholsäure, so ist

$$n = \frac{100 . a - m . 25,3}{27,6}$$

der Gehalt der Flüssigkeit an Glycocholsäure, da die spec. Drehung der an Natron gebundenen Taurocholsäure in alkoholischer Lösung $= + 25,3^{\circ}$, die der Glycocholsäure $+ 27,6^{\circ}$ für Natriumlicht ist.

Die obige Bestimmung von Taurochol- und Glycocholsäure in der Galle stützt sich wesentlich darauf, dass beide Säuren durch Kochen mit Aetzbaryt vollkommen gespalten und das Taurin so wenig als die Cholalsäure durch weiteres Erhitzen mit Aetzbaryt angegriffen werden. Ausführlichere Darlegungen der bei dieser Bestimmung in Betracht kommenden Verhältnisse sind im Journal f. prakt. Chemie, Bd. 89 S. 257—282, gegeben.

Man kann diese Bestimmung der Rotation für die Analyse nur dann benutzen, wenn das Cholesterin bereits durch Aether entfernt ist, nicht in der ursprünglichen entfärbten Galle, da das Cholesterin eine Linksdrehung bewirkt, die zwar gering ausfallen, aber doch immerhin schädlich wirken würde.

In der menschlichen Galle sind auch in den Stoffen, die in Alkohol gelöst und durch Aether gefällt werden, stickstoffreiche basische Substanzen gefunden, z. B. Cholin, wenn auch dasselbe erst durch Spaltung von Lecithin enstanden ist. Will man auf diese Stoffe bei der Analyse noch Rücksicht nehmen, so würden mindestens 2 weitere Portionen des Aetherniederschlags in Wasser gelöst abzumessen sein, von denen die eine zur Gewinnung von Cholinplatinchlorid u. s. w. (vergl. § 65), die andere nach völliger Trocknung ihres Rückstandes zu Stickstoffbestimmungen nach Kjeldahl (vergl. oben § 228) dienen würde.

Untersuchung der Gallensteine und der Sedimente der Galle.

299. Die bei Weitem häufigsten Concremente, welche sich in der menschlichen Gallenblase finden, und zwar sämmtliche grösseren Gallensteine, bestehen aus krystallisirtem Cholesterin ($C_{26} H_{44} O + H_2 O$) und mehr oder weniger Gallenfarbstoff in Verbindung mit Kalk und kohlensaurem Kalk. Im Centrum der meist concentrisch geschichteten Cho-

lesterinsteine ist der Gallenfarbstoffgehalt meist viel bedeutender als in den peripherischen Partien. Ausser diesen Concrementen finden sich beim Menschen oft kleine schwarze, meist unregelmässig geformte Steinchen, die bei geringerem Cholesteringehalte reichlicher Farbstoff und Kalksalz enthalten und zugleich gewöhnlich kupferhaltig sind. Die nicht seltenen Gallensteine der Rinder enthalten hauptsächlich Bilirubincalcium. Gelb oder braun gefärbte rundliche Steinchen als Sand und Gries, die hauptsächlich aus kohlensaurem Kalk bestehen, finden sich beim Menschen selten, häufiger mit etwas phosphorsaurem Kalk gemengt bei Rindern. Flockige weiche Niederschläge in der Galle, welche meist amorph, seltener krystallisirt Bilirubin (Hämatoidin) enthalten, werden zuweilen beobachtet; Schleimmassen, gewöhnlich dunkelgrün oder braun gefärbt, sind nicht selten. Die reichlich Cholesterin enthaltenden Steine zeichnen sich durch krystallinisch glänzende Bruchflächen, Weichheit, geringes spec. Gewicht aus.

Man untersucht die Gallenconcremente am Einfachsten auf folgende Weise: Die gepulverten Massen werden zunächst mit Wasser ausgekocht, um die Reste von Galle, die sich darin gewöhnlich befinden, zu entfernen; den Rückstand extrahirt man mit einer Mischung von etwa gleichem Volumen Alkohol und Aether, so lange diese Mischung noch etwas aufnimmt. Das Ungelöstgebliebene wird mit Salzsäure übergossen (es entsteht dabei Aufbrausen, wenn kohlensaurer Kalk zugegen ist) und mit Wasser gut ausgewaschen. Es bleiben jetzt nur noch Gallenfarbstoffe zurück, die am Besten nach den in § 150 nach Staedeler's Untersuchungen gegebenen Vorschriften dargestellt werden. Auch Hydrobilirubin findet sich nicht selten in Gallensteinen (vergl. § 154 S. 231 unten).

Die ätherisch-alkoholische Lösung auf ein kleines Volumen verdunstet lässt beim Erkalten das Cholesterin herauskrystallisiren, dessen sichere Erkennung keine Schwierigkeit bietet (vergl. § 137).

Die salzsaure Lösung wird zur Trockne in einem Schälchen verdunstet, der Rückstand geglüht und nach dem Erkalten in Wasser und ein wenig Salzsäure wieder gelöst. Enthält die Lösung Kupferoxyd, so giebt sie mit Aetzammoniak übersättigt blaue Färbung. Man untersucht die Lösung im Uebrigen wie die einer Asche nach § 203.

Zur quantitativen Bestimmung würde das Steinpulver zu trocknen und zu wägen sein, ebenso der Rückstand des Alkohol-Aetherextractes bei 110° getrocknet und der auf gewogenem Filter gesammelte, in Alkohol-Aether, Salzsäure und Wasser unlösliche Theil des Steins nach Trocknen bei 110°.

In der salzsauren Flüssigkeit, die wie oben angegeben zur Trockne

verdunstet und deren Rückstand nach dem Glühen in Wasser und etwas Salzsäure wieder gelöst wird, fällt man das Kupfer durch einen Strom Schwefelwasserstoffgas, filtrirt und bestimmt im Filtrate Eisen, Kalk, Magnesia und Phosphorsäure nach den für die Aschenanalyse gegebenen Methoden. Das Schwefelkupfer wird mit dem Filter in einem gewogenen Platintiegel bei gutem Luftzutritt bis zur Verkohlung des Filters erhitzt, dann mit Salpeter und etwas kohlensaurem Natron zum Schmelzen erhitzt, die Masse nach dem Erkalten in Wasser aufgelöst. Das Kupferoxyd wird auf einem aschefreien Filterchen gesammelt, ausgewaschen, getrocknet, wieder in jenem Platintiegel bei gutem Luftzutritt verbrannt und das geglühte Kupferoxyd nach dem Erkalten gewogen.

Untersuchung des Schweisses.

300. Der Schweiss vom Menschen und vom Pferde, soweit dies Secret bis jetzt untersucht ist, enthält neben einer nicht unbedeutenden Quantität anorganischer Salze, besonders Chlorkalium, Chlornatrium, geringe Mengen von Harnstoff, fette flüchtige Säuren, theils frei, theils an Alkali gebunden, besonders Buttersäure, dagegen keinen Zucker im normalen Zustande, ferner gepaarte Schwefelsäuren und aromatische Oxysäuren (Kast[1]). Nach Einnahme von Benzoësäure soll der Schweiss Hippursäure enthalten; bei Diabetes ist zuweilen Zuckergehalt des Schweisses constatirt. Bei Aufhören der Nierensecretion besonders im urämischen Stadium nach Cholera ist der Schweiss zuweilen so reich an Harnstoff, dass die Körperoberfläche mit Krystallen von Harnstoff bedeckt wird. Geringer Albumingehalt ist im Schweisse gefunden[2]). Die Ursache der Klebrigkeit gewisser pathologischer Schweisse ist noch nicht bekannt.

Die von unreiner Haut gesammelten Schweisse können Leucin und Tyrosin neben Baldriansäure und Ammoniak enthalten; die sogenannten „stinkenden Fussschweisse“ sind solche durch Schmutz, faulendes Epithel und Talgdrüsensecret verunreinigte Flüssigkeiten; die reinen Secrete der Schweissdrüsen enthalten weder Tyrosin und Leucin, noch haben sie einen üblen Geruch.

Die Reaction ist im normalen Zustande stets sauer gefunden bei der Untersuchung des frischen Secretes, aber beim Stehen wird dieselbe meist sehr bald neutral oder selbst alkalisch, es enthält dann nachweisbar Ammoniak, welches auf gleiche Weise aus dem Harnstoff durch Gährung entsteht als im Harne; Gelegenheit zur Verunreinigung des

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 11 S. 501.

[2]) Leube, Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1869. No. 39. Arch. f. pathol. Anat. Bd. 48.

Schweisses mit zersetzenden Pilzen ist bei der allein möglichen Methode des Auffangens nur zu reichlich vorhanden.

Daher ist es wichtig, jede zu untersuchende Portion Schweiss sofort nach dem Auffangen mit dem dreifachen Volumen Alkohol zu mischen, um diese Zersetzungen zu vermeiden.

Die sämmtlichen Untersuchungen des Schweisses werden wie die von Transsudaten ausgeführt. Auf Zucker kann man mit Trommer-scher Probe erst nach Ausfällung des Albumin prüfen.

Untersuchung der Milch und des Colostrum.

Zusammensetzung und Verhalten der Milch im Allgemeinen.

301. Die Milch stellt ein in seinen physikalischen Eigenschaften Jedem bekanntes Secret dar, welches in einer schwach gelblich gefärbten Flüssigkeit runde Körperchen von sehr verschiedener, aber stets mikroskopischer Grösse suspendirt enthält, die aus einem bei gewöhnlicher Temperatur nicht völlig flüssigen gelbgefärbten Fette bestehen. Die Flüssigkeit selbst enthält neben wenig löslichen anorganischen Salzen reichlich phosphorsauren Kalk; ihre hauptsächlichen festen Bestandtheile sind Caseïn, Albumin, Milchzucker.

Die Fettkügelchen der Milch scheinen nach Kehrer's*) Untersuchungen einen aus Caseïn bestehenden Ueberzug, den man früher ziemlich allgemein annehmen zu müssen glaubte, nicht zu besitzen. Das Caseïn ist vielmehr nach Kehrer in der Form von kleinen Partikeln und nicht gelöst in der Milch enthalten; ausserdem finden sich nach demselben Beobachter in der Milch Trümmer der die Milch secernirenden Zellen in gequollenem Zustande als ein Schleim, der die Fette der Milch suspendirt erhält.

Die Reaction der menschlichen Milch ist stets im normalen Zustande alkalisch, die der Milch von fleischfressenden Thieren scheint stets sauer zu sein, die Reaction der Kuh- und Ziegenmilch ist bald alkalisch, bald neutral, bald sauer. Die Reaction verändert sich beim Stehen der Milch unabhängig vom Zutritt der Luft. Wenn die Milch in ein Glasrohr eingeschmolzen und dann das ganze Glasrohr auf 100° erhitzt wird, bleibt sie stets flüssig, so lange sie eingeschlossen ist, und ihre Reaction ändert sich nicht. War die Milch nicht gekocht, so bilden sich in ihr fortdauernd aus Milchzucker Milchsäure und daneben etwas Alkohol und Kohlensäure, ihre Reaction wird mehr und mehr sauer und bei bestimmtem Säuregrade gerinnt das Caseïn der Milch zur gallertigen

*) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1870. No. 35. Arch. f. Gynäkologie. Bd. 2 Heft 1 u. Bd. 3 Heft 3.

Masse. Dieser Process geht um so schneller vor sich, je höher die Lufttemperatur ist. Die gekochte Milch beginnt beim Stehen an der Luft ihre saure Gährung nach Hineingelangen von Pilzen. Die saure Gährung wird aufgehoben durch Ausfällen der Milch durch überschüssig zugesetzten Alkohol, ebenso hört sie fast ganz auf, wenn ungefähr 4 p. M. Milchsäure gebildet sind.

Wenn die Milch ruhig steht, steigt ein grosser Theil der Milchkügelchen an die Oberfläche, ohne dass jemals eine völlige Trennung von Flüssigkeit und Milchkügelchen stattfände. Die fettkügelchenreiche Schicht an der Oberfläche, der Rahm, nimmt unter Veränderung des Caseïn und wie es scheint unter geringer Fettbildung Sauerstoff aus der Luft auf und giebt Kohlensäure aus.

Alle Milcharten enthalten mehr oder weniger, meist ungefähr 3 p. M. Lactalbumin vergl. § 162. Jede Milchart enthält ausserdem Caseïn und dies hat noch auf keine Weise unverändert abgetrennt werden können von einem gleichfalls in Kuh- und Ziegenmilch nachgewiesenen Nucleïn vergl. § 192. Das Caseïn der menschlichen Milch (vergl. § 171) ist in seinem Verhalten, wahrscheinlich auch in der Zusammensetzung verschieden vom Caseïn der Kuh- und Ziegenmilch, hat aber einige Eigenschaften mit dem Caseïn der Kuhmilch gemein, die beide von anderen Albuminstoffen unterscheiden. Ausserdem befinden sich in der frisch gemolkenen Milch kaum Spuren von Pepton.

Die menschliche Milch und ebenso die Kuhmilch sind beim Beginn der Lactation reich an Albumin und arm an Caseïn, arm an Fett und Milchzucker, in den späteren Perioden der Lactation nimmt Caseïn-, Butter- und Milchzuckergehalt zu, bleibt dann lange Zeit für jedes Thier ziemlich constant, ist nur wenig abhängig von der Nahrung, aber doch bei Fleischfressern durchaus anders als bei Pflanzenfressern. Die Milch der letzteren enthält stets ungefähr gleich viel Butter und Caseïn, ein wenig mehr Milchzucker, die Milch der Hunde ist dagegen sehr reich an Fett und Caseïn, sehr arm an Milchzucker; die Milch der Einhufer ist bei Weitem ärmer an Fett als die der Wiederkäuer. Ein geringer Gehalt an Albumin ist in jeder bis jetzt darauf untersuchten Milch durch die ganze Lactation bleibend gefunden.

Es würde zu weit führen, die verschiedenen physiologischen Verhältnisse der Milch hier ausführlicher zu besprechen; aus dem Gesagten ergeben sich aber schon einige wichtige praktische Regeln für die Untersuchung.

1) Handelt es sich darum, die Milch eines Thieres mit Rücksicht auf Nahrung, Constitution u. s. w. zu untersuchen, so ist die Drüse ganz leer zu melken.

2) Die gewonnene Milch ist vor der Abmessung einzelner Portionen gut umzuschütteln;

3) sie darf nicht lange Zeit bereits gestanden haben, höchstens einige Minuten bis zur Untersuchung.

4) Die Reaction der Milch ist unmittelbar beim Melken zu prüfen.

Qualitative Untersuchung der Milch.

302. Veranlassung zur qualitativen Untersuchung der Milch können die Vermuthungen geben, 1) dass die Milch alt und verdorben, 2) dass sie verfälscht sei, 3) dass ihr pathologisch Stoffe beigemischt seien, die die normale Milch nicht enthält.

Die Milch ändert, wie es im vorigen Paragraphen beschrieben ist, beim Stehen ihre Reaction, sie wird saurer und saurer, aber wenn man die Anfangsreaction derselben nicht kennt, kann man auch durch Prüfung der Reaction nicht erfahren, in wie weit sie eine Veränderung erlitten hat. Das Verhalten der Milchsäure gegen phosphorsaures Natron ist dem der Hippursäure entsprechend*). Wenn die Milch längere Zeit steht, wird sie so sauer, dass sie deutlich sauer schmeckt, bald aber, nachdem dies bemerkbar wird, gerinnt auch das Caseïn und man kann dann nicht zweifeln, dass eine solche Milch alt und verdorben ist. Schon vor der spontanen Gerinnung erkennt man die Zunahme der Säure an der Gerinnung der Milch beim Kochen oder beim Einleiten von Kohlensäure. Zwar gerinnt schon frische Milch zuweilen beim Kochen, dies ist im Beginn der Lactation auf einige Zeit der Fall, auch später kommt es öfters vor, ohne dass die Milch desshalb für alle Zwecke zu verwerfen wäre, aber sieht man von diesen Ausnahmefällen ab, so erfährt eine frische Milch beim Kochen keine Aenderung, auch wenn vorher Kohlensäure eingeleitet war. Beim längeren Stehen der Milch und Zunahme des Gehaltes an Milchsäure wird zunächst das Caseïn fällbar durch einen Strom von Kohlensäure und nachheriges Erhitzen zum Kochen; kurze Zeit darauf wird das Caseïn durch alleiniges Kochen ohne Anwendung der Kohlensäure fällbar, später wird es durch blosses Einleiten von Kohlensäure gefällt und endlich gerinnt die Milch ohne Kochen und ohne Kohlensäureanwendung. Ist beim Kochen der Milch ein Coagulum entstanden, so kann es fraglich sein, ob dies aus Caseïn oder Albumin besteht; enthält es Caseïn, so ist durch Gährung Milchsäure gebildet, besteht es dagegen nur aus Albumin, so liegt einer der oben bezeichneten Fälle vor. Zur Entscheidung

*) Vergl. Donath, Sitzungsber. d. Wien. Akad. d. Wiss. Bd. 69. Abth. III. 1874. 7. Januar.

dieser Frage versetzt man eine Probe dieser Milch mit einigen Tropfen einer Lösung von phosphorsaurem Natron, so dass jedoch die Reaction der Milch noch sauer bleibt, schüttelt um und erhitzt nun zum Kochen, enthält die Milch viel Albumin, so gerinnt sie auch jetzt bemerkbar, bestand jedoch die früher erhaltene Gerinnung aus Caseïn, so tritt nach Zusatz von phosphorsaurem Natron keine Coagulation beim Kochen ein. Gerinnt eine neutral oder alkalisch reagirende Milch beim Kochen, so kann das Gerinnsel nur aus Albumin bestehen.

Die einzigen wichtigen Verfälschungen, welchen die Kuhmilch im Handel ausgesetzt ist, sind Zusatz von Wasser und Zusatz von kohlensaurem Natron.

Wo das Brunnenwasser gypsreich ist, kann man durch Nachweis von viel Schwefelsäure in der Milchasche einen Anhaltepunkt für den geschehenen Wasserzusatz finden, da die Kuhmilch nur geringe Spuren davon enthält. Man trocknet zu dieser Untersuchung eine Portion Milch von etwa 50 CC. nach Ausfällen des Caseïn durch etwas Essigsäure und viel Wasser und Filtriren, verkohlt, zieht mit Wasser aus u. s. w., wie es für die Untersuchung der Aschen angegeben ist. Die weiteren Untersuchungen der Milch rücksichtlich des Wasserzusatzes siehe unten §§ 305—312. Wenn zur Verhütung der Gerinnung alter Milch vom Milchhändler, wie es in grossen Städten zu geschehen pflegt, Soda zugesetzt ist, lässt sich der Nachweis der Verfälschung der Milch nur in den Fällen liefern, wo der Händler ziemlich viel davon gebraucht hat, da Spuren von kohlensaurem Alkali in der Milchasche vorkommen. Zur Untersuchung fällt man die Milch (etwa 50 CC.) mit einigen Tropfen Essigsäure und viel Wasser, filtrirt, dampft das Filtrat ein, verkohlt den Rückstand, extrahirt mit Wasser und beobachtet, ob auf Zusatz von Salzsäure zum concentrirten Wasserextracte der Kohle lebhaftes Aufbrausen erfolgt.

Die Vorschrift, zum Zwecke der Auffindung des kohlensauren Natron mit Alkohol zu fällen, zu filtriren, das Filtrat auf ein kleines Volumen zu verdunsten und dann mit Säure zu prüfen, ob Aufbrausen entsteht, ist unzureichend, wenn nicht sehr grosse Mengen kohlensaures Natron zugesetzt sind.

Von pathologischen qualitativen Aenderungen sind nur das Erscheinen von Blutfarbstoff, Blut- oder Eiterbeimengung beobachtet.

Hämatoglobulingehalt und Blutkörperchengehalt erkennt man an der Farbe, letztere noch durch das Mikroskop. Eine Beimengung von Eiter, wenn sie reichlich ist, möchte sich wohl nur mikroskopisch erkennen lassen. Blaue Flecken auf der stehenden Milch sind oft

beobachtet; in denselben finden sich Bacterien (bacillus cyanogenus) und Byssusvegetationen, der färbende Stoff ist noch nicht untersucht.

Bestimmung des spec. Gewichts der Milch.

303. Zur genauen Bestimmung des spec. Gewichtes der Milch kann nur die Wägung derselben im Pycnometer nach kurz vor dem Eingiessen ausgeführter sorgfältiger Mischung derselben dienen, weil die Milch keine homogene Flüssigkeit, sondern ein Gemenge einer solchen mit darin suspendirten Fetttröpfchen und Caseïntheilchen darstellt. Dennoch ist nicht zu leugnen, dass die Prüfung der Milch mit dem Aräometer im frischen Zustande sowie nach dem Abrahmen derselben von Werth für die Beurtheilung der Güte der Milch sich erwiesen hat. Es sind für diesen Zweck Aräometerspindeln in Gebrauch, auf deren Scala nur die spec. Gewichte von 1,015—1,040 berücksichtigt sind und die nächste Decimalstelle noch abgelesen werden kann (Müller'sche Senkwage, Lactodensimeter).

Man füllt zur Ausführung einfachster Prüfung der Kuhmilch einen graduirten Cylinder von genügendem Durchmesser und hinreichender Höhe mit der frischen Milch, prüft das spec. Gewicht mit dem Aräometer bei ungefähr 15 ° (gute Kuhmilch zeigt 1,029—1,033 spec. Gew.), nimmt das Aräometer heraus, lässt die Milch zur Rahmabscheidung 24 Stunden stehen, liest die Höhe der gebildeten Rahmschicht ab (bei guter Kuhmilch 10—14 pCt. von der Höhe der ganzen Milch), nimmt dann mit einem Löffelchen vorsichtig den Rahm ab, setzt in die abgerahmte Milch wieder das Lactodensimeter ein und bestimmt das spec. Gewicht, welches bei guter Kuhmilch zwischen 1,0325 und 1,0365 liegen soll.

Bestimmung der einzelnen Bestandtheile der Milch.

Feste Stoffe. Salze.

304. Kaum für eine andere thierische Flüssigkeit sind so viele verschiedene Untersuchungsmethoden empfohlen und angewendet als für die Milch, es würde daher unmöglich sein, hier ohne übermässige Breite auch nur kurz die einzelnen Methoden zu besprechen, und es sollen daher nur die genauesten und die am Schnellsten ausführbaren Methoden ausführlich beschrieben werden.

Die Bestimmung des festen Rückstandes und des Gehaltes der Milch an anorganischen Salzen führt man zweckmässig ganz in der Weise aus, wie es für die serösen Flüssigkeiten in den §§ 265 und 268 beschrieben ist. Sobald die Milch zu trocknen beginnt, färbt sie sich durch eine geringe Zersetzung des amorph bleibenden Milchzuckers

bräunlich; der dadurch entstehende Fehler ist zu unbedeutend, als dass es wichtig wäre, ihn zu vermeiden; trocknet man mit der Luftpumpe über Schwefelsäure, so erhält man den Rückstand völlig trocken und natürlich ohne Bräunung, aber dies ist viel umständlicher als die obige Methode. Das Aufsaugen der abgemessenen Milch in Sand auf einem Filter und Trocknen darin, wie es v. Baumhauer[1]) empfohlen und angewendet hat, wird schnelles Trocknen gestatten, giebt aber zu voluminöse Massen, wenn man sie verkohlen und veraschen will.

Trockne Rückstände von Milch sind sehr hygroskopisch und daher beim Wägen gut bedeckt zu halten.

5—15 CC. Milch wird etwa das beste Volumen sein zu der Bestimmung des Rückstandes und der Asche.

Bestimmung der Durchsichtigkeit der Milch.

305. Den Grad der Durchsichtigkeit der Milch zur Bestimmung des Gehaltes an Milchkügelchen zu benutzen, versuchte zuerst Donné und gab zur Messung der Dicke der Schicht von Milch, durch welche man eine Kerzenflamme gerade noch erkennen könne, ein Instrument, Laktoskop genannt, an. Später hat A. Vogel[2]) auf dasselbe Princip eine Methode gegründet, die ohne Schwierigkeit schnelle Bestimmung gestattet und dann sind mehrere Modificationen dieses Verfahrens beschrieben.

Zu Vogel's Milchprobe sind erforderlich: 1) ein Mischcylinder von mehr als 100 CC. Inhalt, an dessen Wandung durch einen Strich das Mass für 100 CC. Flüssigkeit angegeben ist, 2) eine in $1/_5$ CC. getheilte, vielleicht 10 CC. oder mehr fassende Pipette und 3) ein Gefäss, zusammengesetzt aus 2 planparallelen Glasplatten, die gerade 5 mm von einander entfernt stehen und sich in einer Messingfassung befinden.

Zur Ausführung dieser Probe giesst man in den Mischcylinder 100 CC. klares Brunnenwasser, saugt dann die zu prüfende Milch in die Pipette und lässt bis zum 0-Strich derselben zurückfliessen, bringt darauf 3 CC. dieser Milch in die abgemessenen 100 CC. Wasser, mischt gut durcheinander, bringt nun eine Probe der Mischung in das Gefäss mit planparallelen Wandungen und beobachtet durch dasselbe und die enthaltene verdünnte Milch die Flamme einer Stearinkerze, die in ziemlich dunklem Zimmer sich in mässiger Entfernung (etwa 3 Fuss) vom Beobachter befindet. Ist die Contour der Flamme noch deutlich

[1]) Journ. f. prakt. Chem. 1861. Bd. 84. S. 145.
[2]) A. Vogel, Eine neue Milchprobe. Erlangen 1862.

erkennbar, so giesst man die Flüssigkeit in den Mischcylinder zurück, fügt $^1/_2$ CC. Milch hinzu, mischt und untersucht wieder in obiger Weise das Bild der Kerzenflamme durch die verdünnte Milchschicht im Glaskästchen und fährt mit dieser Procedur so lange fort, bis die Umrisse der Flamme nicht mehr erkennbar sind. Man addirt dann die zugesetzten Milchportionen und soll nun nach einer berechneten Tabelle den Fettgehalt der Milch finden.

Da jedoch die Trübung der Milch von sehr verschieden grossen Milchkügelchen und sehr feinen aufgeschwemmten, sich nie klar absetzenden Caseïntheilchen bewirkt wird, kann diese Untersuchung der Durchsichtigkeit nicht für sich allein zur Bestimmung des Fettgehaltes dienen.

Für den Fall, dass nur vergleichungsweise der Gehalt einer Milch an trübenden suspendirten Theilchen bestimmt werden soll, ist es wohl zweckmässiger, in folgender Weise diese Probe auszuführen*): Man verdünnt die zu untersuchende Milch nach gutem Umschütteln mit dem neunfachen Volumen Wasser, indem man 10 CC. der Milch aus einer Bürette in einen graduirten Cylinder fliessen lässt und Wasser hinzufügt, bis das Volumen der Mischung 100 CC. beträgt. Mit der gut umgeschüttelten Mischung füllt man eine Bürette und lässt in ein Glaskästchen von ungefähr 40—50 CC. Inhalt mit festgekitteten planparallelen Glasplatten, die 1 cm von einander entfernt sind, 5 oder 10 CC. dieser Mischung einfliessen. Man sieht dann durch diese Flüssigkeit nach einer 1 Meter entfernten Stearinkerzenflamme im mässig dunklen Raume nach der dunklen Seite des Zimmers hingewendet, fügt dann cubikcentimeterweise Wasser hinzu, rührt mit einem Fischbeinstäbchen um und beobachtet durch die Mischung die Flamme, bis man durch die Flüssigkeit die Flamme als blasses leuchtendes Bildchen deutlich erkennt. In 10 CC. der ursprünglichen Mischung befindet sich 1 CC. Milch, waren nun noch 32 CC. Wasser hinzugefügt, bis das Flammenbild erkennbar wurde, so war im Ganzen 1 CC. Milch mit 41 CC. Wasser verdünnt, um das Flammenbildchen sichtbar zu machen. 1 CC. sehr guter Kuhmilch muss mit 70—75 CC. Wasser verdünnt werden, um durch eine 1 Cm dicke Schicht der Mischung eine Kerzenflamme sichtbar werden zu lassen. Abgerahmte Milch giebt häufig bei einem Zusatz von 18—20 CC. Wasser bereits so durchsichtige Mischung, dass man durch eine 1 Cm. dicke Schicht dieser Flüssigkeit die Kerzenflamme sieht.

Einen recht brauchbaren einfachen Apparat für denselben Zweck

*) Arch. f. pathol. Anat. Bd. 27 S. 394.

hat Feser angegeben, bestehend aus einem weiten cylindrischen Glasrohr mit Graduirung, unten am geschlossenen Ende zu einem engeren Cylinder verschmälert, in welchem sich ein feststehender Milchglascylinder mit schwarzen Strichen befindet. Man verdünnt 4 CC. Milch so lange mit Brunnenwasser, bis man die schwarzen Linien auf dem Milchglascylinder deutlich sieht.

Zahlreiche andere Apparate und Vorschläge für diesen Zweck können hier umsomehr übergangen werden, als es sich nicht um Bestimmung chemischer Stoffe handelt.

Bestimmung des Caseïn, des Albumin, des Milchzuckers und der Fette.

306. Die Ausfällung der Albuminstoffe bietet unüberwindliche Schwierigkeiten, sobald man die Milch nicht verdünnt; fügt man dagegen so viel Wasser hinzu, dass die Milch auf ihr 20faches Volumen verdünnt wird, so ist eine gute Ausfällung des Caseïn und nachher des Albumin in der Kuh- und Ziegenmilch leicht zu erreichen.

Es ist daher zur Bestimmung des Caseïn und Albumin folgendes Verfahren zweckmässig und durch zahlreiche Versuche geprüft:

Man lässt von der zu untersuchenden Milch nach Umschütteln aus einer Bürette 20 CC. in einen graduirten Cylinder fliessen und verdünnt mit Wasser, bis das Volumen der Mischung 400 CC. beträgt, giesst diese verdünnte Milch in ein hinreichend hohes Becherglas aus, fügt unter Umrühren sehr verdünnte Essigsäure tropfenweise hinzu, so lange bis ein gut flockiger Niederschlag sich zeigt, leitet dann durch die Flüssigkeit einen Strom CO_2 $^1/_4$—$^1/_2$ Stunde lang hindurch und lässt nun einige bis 12 Stunden zur Klärung stehen. Es ist zweckmässig, drei solcher Portionen in dieser Weise zu behandeln und die bestgelungene für die weitere Verarbeitung auszuwählen. Das Caseïn setzt sich mit der Butter als faserig flockiger Niederschlag zu Boden; man filtrirt zuerst die klare Flüssigkeit durch ein gewogenes Filter, sammelt dann mit zurückgegossenen Portionen des Filtrats den Niederschlag auf diesem Filter, wäscht dann einmal mit Wasser aus. Im Filtrate befinden sich Albumin, Zucker, etwas gelöstes Caseïn.

Der Niederschlag wird zur Trennung der Butter vom Caseïn entweder noch ganz feucht einmal mit kaltem Alkohol gewaschen zur Austreibung des Wassers, dann mit mindestens 6—8 Portionen Aether oder zunächst getrocknet auf dem Filter, dann im Soxhlet'schen Extractionsapparat mit Aether erschöpft. Man vereinigt im ersten Falle mit etwas Aether den Verdampfungsrückstand des Alkoholauszugs mit dem des Aethers, trocknet bei mässiger Wärme und wägt die Butter.

Der mit Alkohol und Aether von Fett befreite Caseïnniederschlag wird darauf mit dem Filter im Luftbade bei 120—125° getrocknet, über Schwefelsäure erkalten gelassen und gewogen, dann im Platintiegel verascht unter Zusatz von einer kleinen gewogenen Menge Eisenoxyd und das Gewicht der Asche in Abzug gebracht.

Das wässerige Filtrat wird in einer geräumigen Porcellanschale zum Sieden erhitzt und einige Minuten im Sieden erhalten. Man sammelt dann den Albuminniederschlag, der auch Spuren von Globulin coagulirt enthält, auf kleinem gewogenen Filter, wäscht ihn mehrmals mit kaltem Wasser, trocknet dann bei 120—125° und wägt. Die gesammelten Filtrate und Waschwasser werden nach dem Erkalten gut gemischt und gemessen. Man füllt damit eine Bürette und titrirt mit der Flüssigkeit 20 CC. Fehling'scher Lösung, wie es für den Harn angegeben ist (vergl. § 252), misst die noch übrige Flüssigkeit, die hierzu nicht gebraucht wurde, dampft sie bei mässiger Wärme zum dünnen Syrup ein, sammelt die abgeschiedene Portion Caseïn auf kleinem gewogenen Filter, wäscht sie 5—8 mal mit kaltem Wasser, trocknet das Filter mit dem Niederschlag bei 120—125°.

Die Berechnung der Resultate ist leicht ersichtlich. Die gefundene Menge des Caseïns im Theil des Filtrates wird auf das ganze Filtrat berechnet und der Menge des ursprünglich durch Essigsäure und CO_2 gefällten Caseïn zugezählt. Da 20 CC. Fehling'scher Lösung zur völligen Reduction des Kupferoxyds 0,134 gr Milchzucker erfordern, ist der Milchzuckergehalt des ganzen Filtrats leicht zu berechnen. Albumin sowie Fett werden gleich für die ganzen 20 CC. Milch bestimmt. Man berechnet die Resultate für 100 CC. Milch oder berechnet nach dem spec. Gewicht der Milch für 100 gr derselben. Es ist auch nicht unzweckmässig, die abgemessenen Portionen Milch von 20 CC. zu wägen.

Diese Methode der Bestimmung der Hauptbestandtheile der Milch ist viel benutzt für verschiedene Milcharten von Thieren und giebt bei sorgfältiger Ausführung recht genaue Werthe; für menschliche Milch ist sie nicht anwendbar, weil das Caseïn dieser Milch mit Wasser, Essigsäure und CO_2 nur unvollkommen gefällt wird.

Bestimmung der Summe der Eiweissstoffe durch Fällung mit Alkohol.

307. Man fügt zu einer gemessenen oder bedeckt gewogenen Portion der gut gemischten Milch von ungefähr 20 CC. verdünnte Essigsäure bis zur schwach sauren Reaction, dann das 4fache Volumen starken kalten Alkohol, rührt gut um, lässt eine Stunde lang sich absetzen und filtrirt darauf durch gewogenes Filter. Der Niederschlag wird mit kaltem 60procentigen Alkohol 6—8 mal gewaschen, dann noch sorg-

fältig mit Aether gewaschen, getrocknet bei 120—125° und gewogen. Ein kleiner Theil der Eiweissstoffe geht hierbei in den Alkohol über. Das alkoholische Filtrat wird auf kleines Volumen abgedampft, dann mit kaltem 60procentigem Alkohol der Niederschlag auf ein kleines gewogenes Filter gebracht, erst mehrmals mit 60procentigem Alkohol, dann mit Aether gut gewaschen. Die jetzt abfiltrirte Flüssigkeit wird abermals abgedampft auf kleines Volumen, in Wasser gelöst mit Gerbsäure gefällt, der Niederschlag auf gewogenes Filter gebracht, zuerst mit Wasser, dann mit Alkohol und Aether gewaschen, bei 120° getrocknet und gewogen. Die drei Niederschläge zusammen enthalten alle Eiweissstoffe der Milch. Dieselben sind mit den Filtern unter Zusatz von gewogener Portion Eisenoxyd zu veraschen, zu wägen und die feuerbeständigen Salze vom Gewicht der Eiweissstoffe in Abzug zu bringen.

Diese Methode giebt zu niedrige Werthe, wenn die Gerbsäurefällung unterlassen wird. Sie ist nur zu benutzen, wenn wie bei der menschlichen Milch die in § 306 beschriebene Methode nicht anwendbar ist.

Bestimmung der Summe der Eiweissstoffe durch Fällung derselben mit Kupfersulfat nach Ritthausen.*)

308. Es werden 20 oder 10 CC. Milch auf das 20fache Volumen mit Wasser verdünnt, 10 resp. 5 CC. einer Lösung hinzugefügt, welche 63,5 gr reines krystallisirtes Kupfersulfat in Wasser gelöst, zu einem Liter aufgefüllt enthält, dann verdünnte Kali- oder Natronlauge so lange vorsichtig hinzugetropft, bis die Flüssigkeit neutrale aber eher noch ein wenig saure als alkalische Reaction zeigt. Wird ein wenig zu viel Alkalilauge hinzugefügt, so löst sich Caseïnkupfer auf. Bei richtig neutraler Reaction setzt sich der Niederschlag gut ab und die Flüssigkeit enthält auch kein Kupfer mehr. Es wird dann erst die klare Flüssigkeit durch gewogenes Filter abfiltrirt, der Niederschlag durch Aufrühren in Wasser und Decantiren gewaschen, dann der Niederschlag selbst mit Waschwasser aufs Filter gebracht. Der Niederschlag hat das gesammte Fett der Milch in sich aufgenommen und dies wird davon in derselben Weise getrennt, wie es oben § 306 vom Caseïnniederschlag beschrieben ist. Nach der Aetherextraction wird der Niederschlag noch mit absolutem Alkohol gewaschen, damit er als hellblaue erdige und nicht als glasige harte, schlecht zu trocknende Masse erhalten wird. Filter und Niederschlag werden dann bei

*) Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 15 S. 329.

125° getrocknet, gewogen, verascht, der Glührückstand gewogen und von dem Gewicht des Niederschlags in Abzug gebracht. Die Differenz beider Gewichte wird als Albuminstoffe der Milch gerechnet. Die vom Niederschlage abfiltrirte Flüssigkeit kann wie in § 306 zur Bestimmung des Milchzuckers durch Titriren mit Fehling'scher Lösung dienen, die Alkohol- und Aetherfiltrate geben beim Verdunsten den Gehalt der Milch an Fett.

Bestimmung des Albumins und des Peptons in der Milch nach Fällung mit Magnesiumsulfat, besonders für menschliche Milch zu verwenden.

309. Wird menschliche Milch, Kuh- oder Ziegenmilch mit krystallisirtem Magnesiumsulfat bis zur vollständigen Sättigung versetzt, so wird das Caseïn vollständig abgeschieden, das Albumin nicht gefällt. Hierdurch wird es möglich, den Albumingehalt auch in der menschlichen Milch zu bestimmen. Man misst oder wägt von der gut gemischten Milch 10—20 CC. ab, fügt dazu das 3—4 fache Volumen gesättigter Lösung von Magnesiumsulfat und pulverisirtes krystallisirtes Bittersalz so lange als Lösung erfolgt und noch einen kleinen Ueberschuss, lässt unter häufigem Umrühren einige Stunden stehen, filtrirt dann mit der Wasser-Luftpumpe, was ziemliche Zeit in Anspruch nimmt, und wäscht 6—8 mal mit Portionen von gesättigter Bittersalzlösung das Becherglas und Filter aus. Die gesammelten Filtrate werden dann mit etwas Wasser versetzt, ein paar Tropfen Essigsäure hinzugefügt, zum Sieden erhitzt und einige Minuten im Sieden erhalten, dann durch gewogenes Filter filtrirt, der Niederschlag gut mit Wasser gewaschen, zuletzt mit etwas Alkohol, Niederschlag und Filter bei 120—125° getrocknet, gewogen, verascht, der Glührückstand vom Gewichte des Niederschlags in Abzug gebracht. Ist auch die Peptonbestimmung beabsichtigt, so sind 50—100 CC. Milch statt 10—20 CC. zu verwenden. Die frische Milch enthält auch in noch grösserer Quantität keine wägbare Menge Pepton.

Bestimmung des Fettes in der Milch.

I. Wägungsmethoden.

310. Die in § 306—308 beschriebenen Methoden gestatten auch genaue Bestimmung der Fette der Milch, sind aber umständlich, wenn es sich lediglich um die Fettbestimmung handelt. Die Milch unabgedampft giebt beim Schütteln mit Aether nur langsam das Fett vollständig ab, dies geschieht aber viel leichter, wenn etwas Alkalilauge zur Milch hinzugefügt ist. Man erhält sehr leicht und schnell gute Fett-

bestimmung, wenn man in gut verschliessbarer Flasche 30 CC. Milch mit 1,5 CC. starker Kalilauge von 1,27 spec. Gewicht versetzt, 100 CC. Aether hinzufügt, vorsichtig unter drehender Bewegung beide Flüssigkeiten in ausgedehnte Berührung bringt und diese Mischung häufig wiederholt. Die alkalische Flüssigkeit unten wird ganz klar, man giesst die Aetherlösung durch Trichter in einen geräumigen Kolben ab, giesst neue Portionen Aether auf die alkalische wässerige Lösung, mischt und giesst nach kurzem Stehen ab, bis eine Probe der abgegossenen Aetherlösung im Becherglase verdunstet keinen beachtenswerthen Fettrückstand mehr lässt, destillirt auf dem Wasserbade den Aether bis auf kleines Volumen ab, giesst den Rückstand nach Erkalten in ein kleines Becherglas aus, wäscht mit Portionen Aether den Kolben aus, bringt alle diese Portionen gleichfalls in das Becherglas, lässt den Aether verdunsten, trocknet den Rückstand bei mässiger Temperatur und wägt nach Erkalten über Schwefelsäure.

Noch einfacher ist folgende Methode: Zu 20 CC. Milch fügt man 1 CC. Kalilauge von 1,27 spec. Gewicht. Dann 80 CC. Aether, welcher in verschlossener Flasche bereits mit Wasser gesättigt ist. Man schüttelt gut und wiederholt um und lässt die Flüssigkeit dann stehen. Die ätherische Lösung scheidet sich bald klar ab. Man giesst dann von der Aetherfettlösung schnell in einen Messcylinder soweit als möglich klar ab (60 CC. und mehr lassen sich meist schnell und völlig rein abgiessen), liest das Volumen ab, giesst in ein gewogenes Becherglas aus, spült mit kleinen Aetherportionen den Messcylinder aus und giesst sie gleichfalls in das Becherglas, lässt den Aether bei mässiger Wärme verdunsten, trocknet und wägt den Rückstand. Aus dem Gehalt der abgegossenen Aetherlösung an Fett berechnet man dann den Gehalt von 80 CC. Aether, die aufgegossen waren, und findet hierdurch den Fettgehalt der 20 CC. Milch. Die Milchlaugemischung nimmt nur sehr geringes Aethervolumen auf, so dass eine Correction unnöthig ist.

Diese Methode habe ich mehrmals mit Kuhmilch und menschlicher Milch mit recht gutem Resultate geprüft, man findet jedoch leicht zu wenig Fett, wenn nicht gut umgeschüttelt ist, oder die Mischung zu lange Zeit gestanden hat. Ich bin zu dieser Modification meiner obigen Methode geführt durch die vortreffliche im Folgenden zu schildernde spec. Gewichtsmethode von Soxhlet.

II. Bestimmung des Fettgehaltes der Milch durch Messung des spec. Gewichts der Fettlösung in Aether von Soxhlet.

311. Für die Ausführung der Bestimmung des Fettgehaltes in der Milch sind erforderlich: 1) eine Pipette von 200 CC., eine andere zu

60 CC. und eine dritte zu 10 CC. Inhalt; 2) mehrere schlanke Mischflaschen von $^1/_2$ Liter Inhalt; 3) ein feines Aräometer mit Thermometer zu der Messung des spec. Gewichtes der Aetherfettlösung in einem Apparat mit Kühlvorrichtung durch Wasser von constanter Temperatur; 4) ein kleines Kautschukgebläse zum Uebertreiben der Aetherlösung aus der Mischflasche in den Apparat. Diese Apparate (welche von

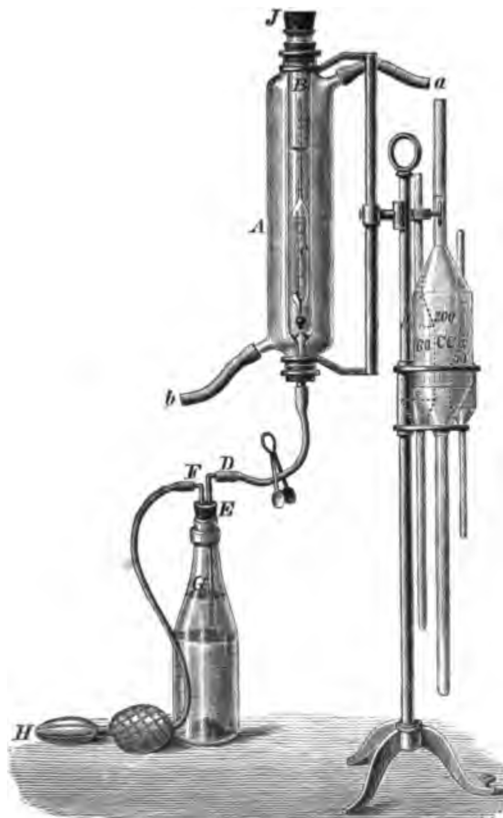


Fig. 9.

Johannes Greiner in München vortrefflich ausgeführt und genau geprüft bezogen werden) sind in ihrer Zusammensetzung während einer Bestimmung dargestellt in Fig. 9. Von Reagentien sind für den Versuch erforderlich: 1) Kalilauge von 1,27 spec. Gewicht (400 gr Aetzkali in Wasser gelöst, nach dem Erkalten zu einem Liter Lösung verdünnt); 2) Aether mit $^1/_{10}$—$^2/_{10}$ Vol. Wasser durchgeschüttelt und dann klar abgegossen; 3) eine Quantität von ungefähr 4 Liter Wasser von 17—18° C. in entsprechend grossem Gefäss.

Die zu untersuchende Milch wird auf 17—18° erwärmt resp. abgekühlt und gut umgeschüttelt. Mit einer Pipette werden 200 CC. von derselben abgemessen und in eine 300 CC. haltende Flasche gebracht, mit einer Pipette 10 CC. obiger Kalilauge hinzufliessen gelassen, umgeschüttelt, mittelst einer dritten Pipette 60 CC. von wasserhaltigem Aether von 17,5—18,5° hinzugemessen, sofort die Mischflasche mit Kautschukstopfen verschlossen, ½ Minute lang der Inhalt gut durchgeschüttelt, in das Wasser von 17—18° eingesetzt und ¼ Stunde darin gelassen, dabei von halber zu halber Minute leicht durchgeschüttelt (3 bis 4 senkrechte Stösse). Man lässt dann noch ¼ Stunde ruhig stehen. Die Abscheidung der Aetherschicht wird durch einige drehende Bewegungen der Flasche beschleunigt. Meist wird sich in der angegebenen Zeit eine genügende klare Aetherschicht oben angesammelt haben, nur sehr fettreiche Milch erfordert längere Zeit, selbst 1—2 Stunden. Ist diese Aetherschicht genügend abgeschieden, so beginnt die Bestimmung des spec. Gewichtes dieser Aetherlösung mit dem Aräometer.

Man füllt zunächst durch Ansaugen am Kautschukschlauch bei *a*, während der Schlauch *b* in Wasser von 17—18° eingesetzt ist, das Kühlrohr *A* voll Wasser, setzt auf die Milch, Kalilauge und Aether enthaltende Schüttelflasche den doppeltdurchbohrten Stopfen *E*, schiebt das rechtwinklig gebogene Glasrohr *D* bis in die unterste Schicht reiner Aetherlösung, verbindet durch Kautschukschlauch *D* mit dem untern Ende des Rohrs *B*, in welchem sich das Aräometer *C* befindet und setzt den Quetschhahn auf den Kautschuckschlauch. An das kurze, dicht unter dem Stopfen *E* mündende, rechtwinkelige Glasrohr *F* fügt man den Kautschlukschlauch, welcher die Milchflasche *G* mit dem kleinen Kautschukblasebalg *H* verbindet, lüftet ein wenig den Kautschukstopfen *J* auf dem Rohre *B* und lässt nun durch Druck auf den Blasebalg *H* unter geringer Oeffnung des Quetschhahns einen genügenden Theil der Aetherlösung in *B* aufsteigen, so dass das Aräometer schwimmt, schliesst schnell den Quetschhahn, stellt den Apparat gut senkrecht durch Regulirung mit der Schraube am Fusse des Stativs und liest den Stand des Niveaus der Aetherlösung an der Scala des Aräometers und den Stand des Quecksilber am kleinen Thermometer des Aräometers ab. Dann ist die Beobachtung beendet. Ist die Temperatur der Aetherlösung 17,5°, so ist keine Correctur des spec. Gewichtes nöthig, im andern Falle ist für jedes Zehntel Grad, das das Thermometer höher steht als 17,5°, zur Angabe des Aräometers 1° hinzuzufügen und für jedes Zehntel Grad, das es tiefer zeigt, 1° von der Angabe des Aräometer abzuziehen. Aus der nachstehenden Tabelle ergiebt sich der dem gefundenen spec. Gewichte der Aetherlösung entsprechende

Tabelle

angebend den Fettgehalt der Milch in Gewichtsprocenten nach dem specifischen Gewicht der Aetherfettlösung bei 17,5 ° Cels.

Spec. Gew.	Fett pCt.	Spec. Gew.	Fett pCt.	Spec. Gew.	Fett pCt.	Spec. Gew.	Fett pCt.	Spec. Gew.	Fett pCt.	Spec. Gew.	Fett pCt.
43	2.07	**47**	2.52	**51**	3.00	**55**	3.49	**59**	4.03	**63**	4.63
43.1	2.08	47.1	2.54	51.1	3.01	55.1	3.51	59.1	4.04	63.1	4.64
43.2	2.09	47.2	2.55	51.2	3.03	55.2	3.52	59.2	4.06	63.2	4.66
43.3	2.10	47.3	2.56	51.3	3.04	55.3	3.53	59.3	4.07	63.3	4.67
43.4	2.11	47.4	2.57	51.4	3.05	55.4	3.55	59.4	4.09	63.4	4.69
43.5	2.12	47.5	2.58	51.5	3.06	55.5	3.56	59.5	4.11	63.5	4.70
43.6	2.13	47.6	2.60	51.6	3.08	55.6	3.57	59.6	4.12	63.6	4.71
43.7	2.14	47.7	2.61	51.7	3.09	55.7	3.59	59.7	4.14	63.7	4.73
43.8	2.16	47.8	2.62	51.8	3.10	55.8	3.60	59.8	4.15	63.8	4.75
43.9	2.17	47.9	2.63	51.9	3.11	55.9	3.61	59.9	4.16	63.9	4.77
44	2.18	**48**	2.64	**52**	3.12	**56**	3.63	**60**	4.18	**64**	4.79
44.1	2.19	48.1	2.66	52.1	3.14	56.1	3.64	60.1	4.19	64.1	4.80
44.2	2.20	48.2	2.67	52.2	3.15	56.2	3.65	60.2	4.20	64.2	4.82
44.3	2.22	48.3	2.68	52.3	3.16	56.3	3.67	60.3	4.21	64.3	4.84
44.4	2.23	48.4	2.70	52.4	3.17	56.4	3.68	60.4	4.23	64.4	4.85
44.5	2.24	48.5	2.71	52.5	3.18	56.5	3.69	60.5	4.24	64.5	4.87
44.6	2.25	48.6	2.72	52.6	3.20	56.6	3.71	60.6	4.26	64.6	4.88
44.7	2.26	48.7	2.73	52.7	3.21	56.7	3.72	60.7	4.27	64.7	4.90
44.8	2.27	48.8	2.74	52.8	3.22	56.8	3.73	60.8	4.29	64.8	4.92
44.9	2.28	48.9	2.75	52.9	3.23	56.9	3.74	60.9	4.30	64.9	4.93
45	2.30	**49**	2.76	**53**	3.25	**57**	3.75	**61**	4.32	**65**	4.95
45.1	2.31	49.1	2.77	53.1	3.26	57.1	3.76	61.1	4.33	65.1	4.97
45.2	2.32	49.2	2.78	53.2	3.27	57.2	3.78	61.2	4.35	65.2	4.98
45.3	2.33	49.3	2.79	53.3	3.28	57.3	3.80	61.3	4.36	65.3	5.00
45.4	2.34	49.4	2.80	53.4	3.29	57.4	3.81	61.4	4.37	65.4	5.02
45.5	2.35	49.5	2.81	53.5	3.30	57.5	3.82	61.5	4.39	65.5	5.04
45.6	2.36	49.6	2.83	53.6	3.31	57.6	3.84	61.6	4.40	65.6	5.05
45.7	2.37	49.7	2.84	53.7	3.33	57.7	3.85	61.7	4.42	65.7	5.07
45.8	2.38	49.8	2.86	53.8	3.34	57.8	3.87	61.8	4.44	65.8	5.09
45.9	2.39	49.9	2.87	53.9	3.35	57.9	3.88	61.9	4.46	65.9	5.11
46	2.40	**50**	2.88	**54**	3.37	**58**	3.90	**62**	4.47	**66**	5.12
46.1	2.42	50.1	2.90	54.1	3.38	58.1	3.91	62.1	4.48		
46.2	2.43	50.2	2.91	54.2	3.39	58.2	3.92	62.2	4.50		
46.3	2.44	50.3	2.92	54.3	3.40	58.3	3.93	62.3	4.52		
46.4	2.45	50.4	2.93	54.4	3.41	58.4	3.95	62.4	4.53		
46.5	2.46	50.5	2.94	54.5	3.43	58.5	3.96	62.5	4.55		
46.6	2.47	50.6	2.96	54.6	3.45	58.6	3.98	62.6	4.56		
46.7	2.49	50.7	2.97	54.7	3.46	58.7	3.99	62.7	4.58		
46.8	2.50	50.8	2.98	54.8	3.47	58.8	4.01	62.8	4.59		
46.9	2.51	50.9	2.99	54.9	3.48	58.9	4.02	62.9	4.61		

Fettgehalt der Milch. Die als spec. Gewichte angegebenen Zahlen der Tabelle sind die Ergänzungen für 0,7000 in der zweiten bis vierten Decimalstelle; 43,0 entspricht also dem wirklichen spec. Gewichte 0,7430. Das Rohr *B*, das Röhrchen *D* und der sie verbindende Schlauch werden nach jedem Versuche mit Aether gereinigt.

Zahlreiche Vorschläge für eine schnelle Bestimmung des Fettgehaltes der Milch nach einer im Wesentlichen zuerst von Marchand angegebenen Methode der Mischung von Milch mit Aether und Alkohol in bestimmten Volumina und Ablesen der Höhe der gebildeten Aetherfettschicht können hier übergangen werden, nur ist zu erwähnen, dass nach F. Schmidt und Tollens*) das Lactobutyrometer von Marchand zur schnellen und genügend genauen Bestimmung des Fettes der Milch benutzt werden kann nach folgendem Verfahren. In das Rohr werden 10 CC. Milch eingegossen, 3—5 Tropfen einer 5procentigen Essigsäure hinzugefügt, stark umgeschüttelt, dann 10 CC. Aether hinzugefügt, durch Stopfen das Rohr verschlossen, gut umgeschüttelt, darauf 10 CC. Alkohol von 90—92 pCt. hinzugefügt, gut umgeschüttelt, in Wasser von 40—45° gesetzt, so lange noch kleine Fetttröpfchen aufsteigen, dann in Wasser von 20° gebracht, darin schliesslich, wenn die Lösung klar geworden ist, die Höhe der Aetherfettschicht abgelesen und nach einer Tabelle aus dem Volumen dieser Schicht der Fettgehalt bestimmt. Die Methode von Soxhlet ist dieser modificirten Marchand'schen Methode ohne Zweifel vorzuziehen.

Bestimmung des Milchzuckergehaltes der Milch.

1) Durch Circularpolarisation.

312. Von der gut gemischten Milch werden 50 CC. abgemessen in einen Kolben von 150 CC. Inhalt, 25 CC. einer Lösung von neutralem Bleiacetat hinzugefügt, umgeschüttelt, der Kolben mit einem durchbohrten Kork geschlossen, in dessen Bohrung das untere Ende eines geraden, an beiden Enden offenen Glasrohrs von ungefähr 30 Cm. Länge steckt. Man erhitzt dann die Mischung im Kolben zum Sieden, lässt aber nur einmal aufkochen, so dass der entwickelte Wasserdampf sich im Glasrohr vollständig condensirt und dann wieder zurückfliesst. Nach dem vollständigen Erkalten wird filtrirt, und wenn das Filtrat noch nicht ganz klar sein sollte, öfter filtrirt, bis die Flüssigkeit klar ist. Man füllt mit der Flüssigkeit ein 200 Mm. langes Beobachtungsrohr und bestimmt am Besten bei 20° C. mit einem der im Anhang beschriebenen Apparate den Rotationswinkel. Ist die spec. Drehung des Milchzuckers ($C_{12}H_{24}O_{12}$) bei dieser Temperatur (vergl. oben § 56) für Natriumlicht $= + 52{,}53^0$, so enthält die Milch, wenn a der abgelesene Winkel und die Länge des Beobachtungsrohrs = 200 Mm. ist, in 100 CC. ein Gewicht Milchzucker

*) Journ. f. Landwirthschaft Bd. 26 S. 361 u. 401, Bd. 27 S. 145.

$$= a \cdot \frac{100}{52,53} \cdot \frac{1}{2} \cdot \frac{3}{2} = a \,.\, 1,4277 \text{ gr.}$$

Wird die Bestimmung ausgeführt mit dem Soleil'schen Apparat und ist die Drehung in Procenten Traubenzucker abgelesen, so ist der Milchzuckergehalt, wenn p die abgelesenen Procente Traubenzucker bezeichnet und $+ 52,6^0$ die spec. Drehung des Traubenzuckers für Natriumlicht ist,

$$= p \cdot \frac{52,6}{52,53^0}.$$

Da die Farbendispersion bei der Circularpolarisation durch Traubenzucker und Milchzucker nicht bemerkbar verschieden ist, gilt der für Natriumlicht gefundene Quotient auch für weisses Licht.

2) Die Bestimmung des Milchzuckergehaltes in der Milch durch Fehling'sche Lösung.

kann nur ausgeführt werden nach Entfernung der Albuminstoffe und der Fette. Am geeignetsten für diesen Zweck ist die in § 306 beschriebene Methode. Die Spuren von Eiweissstoffen, welche nach Fällung mit Essigsäure, CO_2 und Kochen noch gelöst bleiben, beeinträchtigen die Genauigkeit der Titrirung durchaus nicht.

Bestimmung der Citronensäure in der Milch.

Von A. Scheibe*) ist eine Methode der Titrirung der Citronensäure in der Milch beschrieben, die allerdings viele Vorbereitungen nöthig macht. 400 CC. Milch werden mit 4 CC. $2^1/_2$ Normalschwefelsäure gemischt, aufgekocht, 10 gr spanische Klärerde mit Wasser zum dicken Schleim angerührt und zugefügt, wieder aufgekocht, nach Erkalten mit Wasser zu $^1/_2$ Liter aufgefüllt, filtrirt (ist das Filtrat nicht klar, so wird nochmals mit spanischer Klärerde behandelt). Zu 100 CC. vom Filtrat wird soviel Barytwasser gefügt, dass die zugesetzte Schwefelsäure gerade gesättigt wird, dann zum Syrup abgedampft. Der möglichst homogene Syrup wird mit 3,2 CC. der $2^1/_2$ Normalschwefelsäure versetzt, dann 20 CC. absoluter Alkohol hinzugefügt und nach kurzem Absitzenlassen 60 CC. Aether zugemischt. Die Mischung wird durch Baumwolle filtrirt, wodurch der krystallinisch abgeschiedene Milchzucker völlig entfernt wird. Das Filtrat wird mit alkoholischem Ammoniak versetzt bis zur bleibenden Trübung, dann der Aether abdestillirt, so dass ungefähr 20 CC. Flüssigkeit restiren, dann 60 CC. absoluter Alkohol zugefügt und durch 10 CC. alkoholisches Ammoniak die Citronensäure als Triammoniumverbindung abgeschieden. Der beim Stehen sich gut abscheidende krystallinische Niederschlag enthält die ganze Citronensäure neben etwas schwefelsaurem und phosphorsaurem Ammoniak und etwas Chlorammonium, auch ein wenig organischer Substanz, die durch Wiederholung der Fällung entfernt wird.

Das citronensaure Ammoniak wird in Wasser gelöst und auf 20 CC. Lösung concentrirt, dann mit Kaliumbichromat titrirt. Eine Lösung, welche 46,1 gr Kaliumbichromat im Liter enthält, wird eingestellt gegen eine Lösung von 150 gr Ferrosum-Ammoniumsulfat aufgelöst in 700 CC. Wasser, mit 100 CC. concentrirter

*) Die Landwirthschaftl. Versuchsstationen Bd. 39 S. 153. 1891.

Schwefelsäure versetzt und zu 1 Liter aufgefüllt. 20 CC. Eisenlösung mit 80 CC. Wasser verdünnt verbrauchen 7,7 bis 8 CC. Bichromatlösung zur völligen Oxydation. Für die Titrirung der Citronensäure werden 20 CC. der Citronensäurelösung mit 20 bis 30 CC. Bichromatlösung und 20—25 CC. concentrirter Schwefelsäure vorsichtig unter Umrühren versetzt, nach etwa 1/4stündigem Erhitzen (darf nicht zum Sieden gesteigert werden) ist die CO_2 Entwickelung zu Ende. Man verdünnt mit 50 CC. Wasser, setzt Ammon-Ferrosumsulfat im Ueberschuss zu, bis die braune Farbe in Grün übergegangen ist, und titrirt nun mit Bichromat zurück bis Ferricyankalium kein Ferrosum mehr anzeigt. Nach der Gleichung $C_6 H_8 O_7 + 6 Cr O_3 = 6 CO_2 + 3 Cr_2 O_3 + 4 H_2 O$ sollte 4,61 Bichromat 1 gr Citronensäure entsprechen. Nach den ausgeführten Titrirungen entsprechen 4,61 gr Bichromat 1,02 gr Citronensäure. Ein Gehalt der Milch an Milchsäure ist für diese Titrirung ohne Nachtheil, weil diese Säure durch alkoholisches Ammoniak nicht gefällt wird.

Untersuchung der Secrete der Talgdrüsen in der Haut, der Vernix caseosa, des Wollschweisses der Schafe, des Smegma, des Ohrenschmalzes, des Inhaltes der Balggeschwülste und Dermoidcysten.

313. Es schliessen sich die fetthaltigen Secrete der Hautdrüsen in manchen Hinsichten an die Milch an; in mehreren derselben ist Caseïn und Albumin gefunden, Zucker dagegen in keinem. Sehr eigenthümlich sind ihnen Aetherarten vom Cholesterin, Isocholesterin, Cetylalkohol (vergl. oben §§ 38, 137 u. 138) und vielleicht Homologen derselben. Die Untersuchungen von Schulze[1]) über den Wollschweiss der Schafe, von de Jonge[2]) über das Secret der Bürzeldrüse der Vögel sind für die Gesichtspunkte massgebend, nach denen die Untersuchung der Bestandtheile des Aetherauszuges dieser Secrete einzuleiten ist. Der Befund von Sotnitschewski[3]) eines Alkohols von hohem Moleculargewicht im Aetherauszuge des Inhalts einer Dermoidcyste beweist, dass auch hier auf diese Stoffe zu achten ist. Die reichlich im Ohrenschmalz gefundenen Seifen bedürfen noch schärferer Scheidung und Analyse. Die Untersuchung der Eiweissstoffe auf Caseïn, Albumin u. s. w. geschieht in den mit Wasser stark verdünnten Secreten nach den für die Milch gegebenen Methoden. Leucin und Tyrosin, in Atherombälgen gefunden, sind durch heisses Wasser zu extrahiren nach Fällung mit basischem Bleiacetat und Entbleien des Filtrats durch die oben §§ 93 u. 129 angegebenen Methoden und Proben zu isoliren und nachzuweisen.

---

1) Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 6 S. 251.
Journ. f. prakt. Chem. N. F. Bd. 25 S. 159.

2) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 3 S. 225.

3) Ebendas. Bd. 4 S. 345.

Untersuchung des Sperma und der Testikel.

314. Zur Untersuchung des menschlichen und thierischen Samens geben die Arbeiten von F. Miescher[1]) die erste Anleitung. Weder durch Decantiren noch durch Filtriren auch mit der Wasserluftpumpe gelingt es, die Spermatozoen von der Flüssigkeit zu trennen, wenn nicht ein paar Tropfen Essigsäure zugesetzt sind. Das Verhalten gegen Wasser und Salzlösungen zeigt auffallende Verschiedenheiten des Sperma verschiedener Thierspecies. Es finden sich in den Spermatozoen wohl regelmässig Albuminstoffe, Nucleïnsäure oder Nucleïn[2]), Cholesterin, ein Cerebrosid[2]), Lecithin und anorganische Salze. Ueber die Eigenschaften und das Vorkommen der Nucleïnsäure vergl. § 192. In der Spermaflüssigkeit fanden C. v. Noorden, sowie Posner[3]) Propepton.

Untersuchung des Eiters.

315. Obwohl der Eiter meist eine ziemlich breiige Consistenz hat, lässt er sich doch gewöhnlich durch Filtration, die freilich sehr langsam erfolgt, in ein klares gelbliches Serum und die auf dem Filter bleibenden Eiterkörperchen trennen. In dem Eiterserum findet sich neben Serumalbumin ein durch Magnesiumsulfat fällbarer Albuminstoff, der sich gegen sehr verdünnte Salzsäure und gegen Chlornatriumlösung u. s. w. wie Serumglobulin verhält. Dies Serum enthält auch gewöhnlich etwas Pepton oder Propepton.

Unter den Extractivstoffen des Eiters sind Leucin, Harnstoff, Zucker aufgefunden. Die Untersuchung des Eiterserum wird in jeder Hinsicht wie die einer serösen Flüssigkeit ausgeführt. Hinsichtlich der Untersuchung auf den häufig vorkommenden blauen Farbstoff des Eiters und die Chlorrodinsäure, welche hier und da im Eiter gefunden sind, ist in der ersten Abtheilung bereits das Wichtigere angegeben (vergl. § 156 und § 159).

Die Eiterkörperchen können wie die Blutkörperchen durch verdünnte Salzlösungen isolirt werden, aber nicht jede Salzlösung ist hierzu geeignet; Chlornatriumlösung verwandelt sie in eine zähschleimige Masse, während verdünnte Lösungen von schwefelsaurem Natron oder von salpetersaurem Baryt sie nicht zu verändern scheinen. Sie senken sich in den letzteren Lösungen gut und können damit gewaschen werden. Hinsichtlich der Analyse der Eiterkörperchen ist besonders auf die

---

[1]) Verhandl. d. naturh. Gesellsch. in Basel. Bd. 7 Heft 1 S. 138. 1874.

[2]) Kossel, Verhandl. d. physiol. Gesellsch. zu Berlin 1892—93 No. 1 und Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 17 S. 456.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1888 No. 21 und Jahresber. f. Thierchemie 1888 S. 318.

Arbeiten von F. Miescher[1]) und Kossel[2]) zu verweisen, hauptsächlich in Betreff der Kerne der Eiterkörperchen, in denen Miescher zuerst Nuclein und Sulfonuclein (vergl. § 192) nachgewiesen hat. Ausserdem sind in den Eiterkörperchen gefunden Albuminstoffe, Cholesterin, Lecithin, mehrere Cerebroside[3]) (vergl. § 106), Fette und anorganische Salze[4]). Von Hofmeister[5]) wurde viel Pepton aus Eiterkörperchen erhalten, Salomon fand darin Glycogen.

Die Isolirung der Kerne gelingt durch Behandlung der Eiterzellen mit sehr verdünnter Salzsäure und nachheriges Schütteln der in Wasser suspendirten Reste mit Aether, oder besser durch wiederholtes Ausziehen der Eiterzellen mit Aether und mit heissem Alkohol, nachherige längere Digestion mit gut verdauendem Magensaft, Auswaschen des Restes mit Wasser. Von den ungelöst bleibenden Kernsubstanzen wird durch verdünnte Sodalösung oder sehr schwache Natronlauge Nuclein und Sulfonuclein gelöst, während ein wahrscheinlich den Hornsubstanzen verwandter Stoff zurückbleibt, doch bietet die Trennung dieser beiden Substanzen von einander noch Schwierigkeit.

Untersuchung der Flüssigkeiten des Hühnereies.

316. Den Inhalt des Hühnereies kann man mechanisch ziemlich vollkommen in Eiereiweiss und Dotter trennen. Das durchsichtige gelblich gefärbte gallertige Hühnereiweiss lässt sich, wenn man es durch ein Tuch gepresst hat, unverdünnt gut filtriren und das Filtrat wird durch Zusatz von Wasser nicht, durch Zusatz von viel Wasser und wenig Salzsäure oder Essigsäure stark getrübt; durch Schütteln mit Aether entsteht reichlicher weisser Niederschlag. Das Eiereiweiss hat eine deutlich alkalische Reaction, steht es an der Luft in dünnen Schichten oder filtrirt man es durch Papier, so bräunt es sich, indem wahrscheinlich die geringe Menge Zucker, die es enthält, zum Theil zersetzt wird; filtrirt man Eieralbumin in einer Kohlensäure- oder Leuchtgasatmosphäre, so bleibt es schwach gelblich gefärbt. Der Zuckergehalt lässt sich im Eiereiweiss wie in einer serösen Flüssigkeit untersuchen. Der Farbstoff, welcher dem Hühnereiweiss die gelbe Farbe verleiht, ist nach den Spectralerscheinungen Lutein, der Eiweissstoff,

---

[1]) Verhandl. d. naturh. Gesellsch. in Basel. Bd. 7 S. 138. F. Miescher, Med. chem. Untersuchungen, herausgegeben von Hoppe-Seyler. Berlin 1870. Heft 4 S. 441.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 5 S. 152 u. 267 u. Bd. 7 S. 7.

[3]) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chemie Bd. 17 S. 452.

[4]) Hoppe-Seyler, Med. chem. Unters. Berlin 1870. Heft 4 S. 486.

[5]) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 274.

welcher durch Wasser und Säure gefällt wird, löst sich leicht in Chlornatriumlösung.

Leitet man einen Strom Kohlensäure durch Eiereiweiss, so bilden sich einzelne Fasern und Häutchen, die jedoch der Menge nach unbedeutend bleiben.

Die Dottermasse in einer Flasche mit Aether geschüttelt giebt an diesen ihren Gehalt an Fett und gelbem Farbstoff ab, der farblose Rückstand mit einer Mischung von 1 Volumen concentrirter Kochsalzlösung und 2 Volumina Wasser behandelt und aufs Filter gebracht, lässt eine opalescirende Flüssigkeit filtriren, die in viel Wasser getropft einen weissen reichlichen Niederschlag giebt; dieser Niederschlag besteht aus Vitellin, viel Nucleïn[1]) (oder beides zusammen verbunden als Nucleoalbumine vergl. § 192) und Lecithin.

Das durch Aether aus dem Dotter ausziehbare gelbe Fett enthält viel Cholesterin, Lecithin, Luteïn und im Uebrigen die gewöhnlichen Fette Oleïn, Palmitin. Die sonst angegebenen Bestandtheile: Glycerinphosphorsäure, Cerebrinsäure, sind Zersetzungsproducte des Lecithin.

Die Reaction der Dotterflüssigkeit ist stets alkalisch wie die des Eiweiss, die Ausfällung der Eiweissstoffe gelingt daher erst nach Neutralisation mit Essigsäure oder Kohlensäure vollständig durch Wasser.

Von Stoffen, welche nicht in Aether, aber in Alkohol löslich sind, ist im Dotter nur Zucker mit Sicherheit aufgefunden. Er wird wie in einer serösen Flüssigkeit nachgewiesen (vergl. § 263). Das behauptete Vorkommen von Cerebrin, Glycogen, Amylum im Hühnerei ist wohl sehr zweifelhaft.

Die Uterinmilch von Wiederkäuern ist noch wenig untersucht. Gamgee[2]) fand darin 6—10 pCt. gewöhnliches Albumin, 1 pCt. Fett, 0,4—0,8 pCt. Asche. Diese Flüssigkeit wäre wie eine seröse Flüssigkeit zu untersuchen. Sie zersetzt sich leicht und verwandelt dann ihre alkalische Reaction in saure.

Untersuchung des Darminhaltes und der Fäces.

317. Das Gemenge von Speisen und Secreten des Darmcanals, welches als Speisebrei im Dünndarm eine dünnbreiige bis flüssige Consistenz besitzt und im Wesentlichen die unzersetzten Bestandtheile der Secrete, emulsionirtes Fett, Zucker, Peptone und unverdaute Albuminstoffe und andere Theile der Speisen enthält, soll im Verlaufe durch den Dünndarm noch ein Secret der kleinen Drüschen der Dünndarmschleimhaut erhalten, welches Darmsaft benannt, aber von Nie-

---

1) F. Miescher, Med. chem. Untersuchungen, herausgeg. von Hoppe-Seyler. Berlin. Heft 4 S. 502.

2) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1864. S. 150.

mand in reinem Zustande gewonnen ist. Die Versuche, dieses Secret durch Abschnürung mittelst Streichen entleerter Darmschlingen zu erhalten, haben meist pathologische Flüssigkeiten, Transsudate, erzeugt, deren Untersuchung nur insofern etwas Besonderes ergeben hat, als es sich zeigte, dass sie zum Theil noch Eiweiss zu verändern oder zu verdauen im Stande waren; bis man das Statthaben der Secretion der Darmschleimhaut wirklich nachgewiesen hat, müssen alle derartigen Versuche ohne sichere Ergebnisse bleiben. Die Reaction des Speisebreies zeigt die grösste Verschiedenheit, oft ist sie im Innern des Darmes sauer, an den Wandungen alkalisch, zuweilen sauer vom Magen bis zum After, meist im unteren Theil des Dünndarms alkalisch, im oberen sauer.

Im Dickdarm wird die Consistenz der Massen durch Resorption der wässerigen Lösungen aus denselben fester, die Reaction im normalen Zustande sauer, die Albuminstoffe, Zucker, emulsionirte Fette verschwinden aus dem Dickdarminhalt beim Hinabrücken, es verlassen in den Fäces die unverdaulichen sehnigen und keratinhaltigen Reste des genossenen Fleisches und Knochenmehls bei Fleischfressern, die Cellulose und Harze der Nahrung bei Pflanzenfressern gemengt mit Schleim, abgestossenem Epithel, Gallenfarbstoffen, Cholesterin, Resten der Gallensäuren, Kalkseifen, freien fetten Säuren, phosphorsauren und schwefelsauren Erden den Darmcanal; die hellbraune Färbung, welche normale Fäcalstoffe gewöhnlich zeigen, rührt im Wesentlichen von Hydrobilirubin her (vergl. § 154).

Das M e c o n i u m enthält vielleicht mit etwas Beimengung von Vernix caseosa Gallenreste, Schleim und Epithel des Darmcanals. Biliverdin, Cholesterin und Spuren von Gallensäuren können durch Alkohol, viel Bilirubin mit Chloroform daraus extrahirt werden. Dampft man das Alkoholextract mit kohlensaurem Natron zur Trockne ein und zieht den Rückstand zunächst mit Aether, dann mit Alkohol aus, so erhält man beim Verdunsten des Aetherauszuges Cholesterin in strahligen, beim Umkrystallisiren aus heissem Alkohol in blätterigen Krystallen. Der Alkoholauszug, durch Verdunsten von Alkohol befreit, giebt alle für die Gallensäure charakteristischen Reactionen (vergl. § 141). Producte der Fäulniss fehlen im Meconium ganz.

Die normale Färbung der Fäces von Säuglingen ist eine hellbraune, durch Hydrobilirubin bedingt, häufig geht diese Färbung schon bei geringen Digestionsstörungen in Grün über, die Fäces enthalten dann Biliverdin.

Ausser der häufigen Beimengung von Blut oder Eiter finden sich in Krankheiten oft folgende Stoffe als pathologische Beimengungen:

Albumin, Harnstoff, Hämatin, eine bedeutende Vermehrung erfahren häufig pathologisch die löslichen Salze, besonders Chlornatrium, Gallenfarbstoff, der unverändert in den normalen Fäcalstoffen der erwachsenen Menschen nicht vorhanden ist, aber bei allen Diarrhöen sich reichlich in den Dejectionen findet, wenn sie nicht excessiv werden oder wenn nicht die Gallenausscheidung stockt wie in der Cholera, endlich Gallensäuren, die auch nur bei Diarrhöen reichlich in die Fäces gelangen. Hämatin ist ein häufiger Bestandtheil der Fäces, stammt bei gesundem Darme aus der Nahrung (Blut des Fleisches), tritt aber auch stets in den Fäces auf, wenn eine Blutung in irgend einer Stelle des Darmes, mit Ausnahme des unteren Theiles vom Dickdarm, stattfand und die Functionen des Darmes nicht völlig gestört sind, wie bei der Cholera, wo die Blutkörperchen in den Dejectionen unverändert erscheinen. In seltenen Fällen (wie es scheint regelmässig bei Cystinurie) finden sich Diamine (Cadaverin, Putrescin).

318. Einen sehr bedeutenden Theil der normalen Fäces von Menschen und Fleischfressern scheinen zerfallene Epithelzellen des Darmcanals auszumachen. Eine genügende Untersuchung ist hierauf noch nicht gerichtet. Die Angaben über Eiweissgehalt in den Fäces, welche sich regelmässig in Stoffwechselarbeiten finden, sind hierher zu beziehen sowie auf unverdaute Reste anderer Körper der Nahrung; Eiweissstoffe fehlen in normalen Fäces fast immer vollständig (bei sehr reichlicher Einnahme von Milch, Käse u. s. w. kommen sehr selten Reste derselben in den Fäces vor).

Zur Untersuchung auf Gallensäuren werden die Fäces mit Alkohol extrahirt und das filtrirte Extract nach Abdestilliren der grössten Quantität des Alkohol erst mit Salzsäure gut angesäuert, dann mit Barytwasser stark alkalisch gemacht, der Ueberschuss des Baryt durch einen Strom CO_2 ausgefällt, zum Kochen erhitzt, heiss filtrirt, der Rückstand mehrmals mit Wasser ausgekocht und filtrirt. Die Filtrate auf kleines Volumen eingedampft, geben beim Erkalten Niederschlag von cholalsaurem Baryt, während glycocholsaurer und etwa vorhandener taurocholsaurer Baryt in Lösung bleiben. Oelsaurer, palmitin- und stearinsaurer Baryt sind in Wasser unlöslich, bleiben sonach bei der Wasserextraction im Niederschlage. Hinsichtlich der weiteren Darstellung, Krystallisation und Nachweis der Gallensäuren durch Pettenkofer's Reaction, Circularpolarisation u. s. w. vergl. oben §§ 139 – 144.

Urobilin kann durch Alkohol und einige Tropfen Schwefelsäure aus den Fäces extrahirt werden. Das Filtrat bei 45—50° auf kleines Volumen eingeengt, mit gleichem Volumen Wasser gemischt, wird mit Chloroform ausgeschüttelt. Die spectroskopische Prüfung der Chloro-

formlösung und die grüne Fluorescenz nach Zusatz von ein wenig Chlorzink und überschüssigem Ammoniak entscheidet über die Anwesenheit von Urobilin, wenn nicht die Anwesenheit von Hämatin oder Chlorophyllan oder anderen Farbstoffen die Untersuchung vereitelt. Méhu*) hat Urobilin aus dem Wasserauszug der Fäces durch Ammoniumsulfat und Schwefelsäure (2 gr im Liter) ausgefällt.

Die Untersuchung der Fäces auf eine nicht geringe Anzahl verschiedener Stoffe, die in ihnen oft enthalten sind, lässt sich an einer und derselben nicht zu kleinen Portion der Fäces ausführen und zwar kommen hier in Betracht: Indol, Skatol, Phenole, fette Säuren, Fette, Cholesterin, Chlorophyllan, Glucoside, die in Alkohol löslich sind, Amylum, Gummi, Cellulose.

Die Fäces werden mit Wasser zum dünnen Brei gemischt und der dritte Theil des Volumen abdestillirt. Das Destillat enthält neben freien fetten Säuren Phenole, Indol, Skatol. Der Rückstand wird etwas eingedampft, nach dem Erkalten mit Schwefelsäure stark angesäuert und erst mit Alkohol, dann mit Aether gut extrahirt und die Extracte abfiltrirt. Diese Extracte enthalten: fette Säuren, Fette, Cholesterin, Gallensäuren, Glucoside und Chlorophyllan, wenn diese in den Fäces enthalten sind. Der Rückstand kann enthalten; Keratin, Elastin, Nuclein, Cellulose, Amylum, Gummiarten.

Das erhaltene Destillat wird mit Natriumcarbonat übersättigt wieder der Destillation unterworfen, Indol, Skatol, Phenole gehen über, die fetten Säuren bleiben als Natriumverbindungen zurück. Das Destillat wird mit Aetzkali stark alkalisch gemacht und abermals destillirt, im Destillat finden sich Indol, Skatol. Die zurückgebliebenen Phenole werden nach Ansäuern des Rückstandes mit Schwefelsäure abdestillirt und im Destillate nach § 107, Indol und Skatol nach §§ 109 und 110, die fetten Säuren nach Zusatz von Schwefelsäure abdestillirt, im Destillate nach § 34 getrennt und nachgewiesen.

Die oben erhaltenen Alkohol- und Aetherauszüge werden mit Natriumcarbonat übersättigt, Alkohol und Aether abdestillirt, der Rückstand in viel Wasser zertheilt und mit Aether ausgeschüttelt, die ätherische Lösung im Scheidetrichter getrennt. Die Aetherlösung enthält die Fette und das Cholesterin. Nach Abdestilliren des Aethers wird der Rückstand mit alkoholischer Kalilauge verseift und nach §§ 48 und 137 (am Ende) Cholesterin und fette Säuren getrennt.

Die alkalische wässerige Lösung, von welcher der Aether abgegossen war, wird nach Verdunsten des Aetherrestes mit Schwefelsäure

*) Journ. de pharm. et de chim. Août 1878.

stark angesäuert und die Hälfte der Flüssigkeit abdestillirt. In das Destillat können noch fette Säuren übergegangen sein, welche nach § 34 nachzuweisen sind. Der Rückstand wird neben Gallensäuren Oelsäure, Palmitinsäure, Stearinsäure enthalten können, die man in der Kälte erstarren lässt, abfiltrirt und nach § 35 untersucht (Trennung von Gallensäuren wie oben angegeben mit Baryt). In der wässerigen Lösung kann man mit Trommer's Probe auf Zucker untersuchen, wenn man auf in Alkohol lösliche Glucoside Rücksicht zu nehmen hat.

Die in Alkohol und Aether nicht gelösten Stoffe werden mit Wasser ausgekocht und filtrirt. Im Filtrate wird mit Jod auf Amylum geprüft, durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure, Uebersättigung nach dem Erkalten mit Natronlauge, Zusatz von etwas Kupfersulfat und Kochen auf Amylum, Dextrin, Gummi.

Von den in Wasser nicht löslichen Stoffen wird die Cellulose durch Erwärmen in verdünnter Natronlauge nicht gelöst, nach Wasserzusatz durch Asbest abfiltrirt, der Rückstand mit dem Asbest nach dem Trocknen fein pulverisirt, in nicht zu viel concentrirter Schwefelsäure durch Zusammenreiben in der Reibschale gelöst, die Lösung in die 20fache Quantität siedendes Wasser eingetropft, noch $^1/_2$ Stunde unter Ersatz des verdampfenden Wassers im Sieden erhalten, dann mit Trommer's Methode nach § 52 auf gebildete Maltose und Glucose geprüft.

Auf Nuclein untersucht man besser in gesonderter Portion, nachdem man sie mit Alkohol, dann mit Aether unter Zusatz von Salzsäure extrahirt hat. Der in saurem Aether und Alkohol unlösliche Rückstand wird noch mit wässeriger verdünnter Salzsäure sorgfältig extrahirt und mit salzsäurehaltigem Wasser ausgewaschen. Die ungelöst gebliebene Substanz wird mit Salpeter und Soda in der Platinschale verbrannt und die wässerige Lösung der Schmelze auf Phosphorsäure untersucht. Die Gegenwart von Phosphorsäure beweist ihre Herkunft aus Nuclein, da alle Phosphate, selbst Eisenphosphat, in verdünnter Salzsäure gelöst werden. Möglichste Extraction durch sauren Aether und Alkohol muss der weitern Behandlung auch vorausgehen, um das eisenhaltige Hämatin zu entfernen, dessen bei der Veraschung zurückbleibendes Eisen Zweifel an genügender Extraction der anorganischen Salze erregen kann.

Hämatin geht in die sauren Aether- und Alkoholauszüge über und wird in einer Portion derselben spectroskopisch erkannt. Bei Anwesenheit anderer Farbstoffe geben die Bildung von Hämochromogen in alkalischer Lösung mit ein wenig Schwefelammonium, die sehr schwierige Zerstörung beim Schmelzen mit Aetzkali und beim Kochen der schwach alkalischen Lösung mit Quecksilberoxyd sowie der hohe Eisengehalt gute Erkennungsmittel.

Chlorophyllan geht gleichfalls in die Alkohol- und Aetherlösung grösstentheils über und wird spectroskopisch nachgewiesen. Die genügend concentrirte ätherische Lösung mit dem gleichen Volumen rauchender reiner Salzsäure geschüttelt, giebt Blaufärbung der Salzsäurelösung durch Chlorophyllansäure; Absorptionsstreif zwischen B und C bei spectroskopischer Prüfung der Salzsäurelösung.

Zur Darstellung der Diamine werden die Fäces mit schwefelsäurehaltigem Alkohol digerirt. Der Auszug wird verdunstet, der Rückstand in Wasser gelöst und die filtrirte Lösung in der oben §§ 68 u. 69 angegebenen Weise mit Benzoylchlorid und Natronlauge behandelt.

Auf Albumin untersucht man Fäces durch Ansäuern mit Essigsäure (Zusatz von Wasser wenn nöthig), Filtration und Prüfung mit Ferrocyankalium, auf Pepton und Propepton durch Biuretreaction.

Die Untersuchung auf Harnstoff geschieht nach der § 77 ausführlich beschriebenen Darstellungsmethode.

Lecithin kommt in normalen Fäces nicht vor. In Krankheiten, schon in dünnen Dejectionen bei Darmcatarrh kann es auftreten. Es wird mit Alkohol extrahirt, der Alkoholauszug verdampft, der Rückstand mit Aether ausgezogen und das Aetherextract wie dasjenige einer serösen Flüssigkeit auf Lecithin geprüft (vergl. § 268 am Ende).

Zur Untersuchung der anorganischen Stoffe ist eine Trennung 1) der in Alkohol löslichen Stoffe, 2) der in verdünnter Essigsäure, 3) der in Salzsäure löslichen Bestandtheile von den in beiden unlöslichen Körpern vor der Veraschung erforderlich, wenn man eine genügende Kenntniss der wirklich vorhandenen anorganischen Säuren und Metalle erlangen will. Verascht man die Fäces ohne vorherige Scheidung in dieser Weise, so treibt die Phosphorsäure der sehr häufig, wenn nicht fast immer vorhandenen Nucleïne andere Säuren aus ihren Metallverbindungen aus, ebenso geschieht es durch die häufig reichlich in den Fäces enthaltene Kieselsäure, endlich wird beim Verbrennen der schwefelhaltigen Stoffe (Haare, Nucleïn, Keratin) bei Gegenwart von Carbonaten Sulfat gebildet. Eisenoxyd in der Asche des Alkoholauszuges ist als dem Hämatin zugehörig, Eisenoxyd in der Asche des salzsauren Auszuges erhalten ist als Phosphat resp. als Oxyd in Rechnung zu stellen.

Bei Stoffwechseluntersuchungen ist es allgemein üblich, die mit Aether extrahirten Stoffe als Fett zu bezeichnen, den Stickstoffgehalt des Trockenrückstandes als dem Eiweiss zugehörig, das Product directer Veraschung als anorganische Bestandtheile der Fäces in Rechnung zu stellen. Das eine ist so unrichtig wie das andere.

Ueber das Excretin und die Excretolinsäure Marcet's ist § 199 bereits genügend gehandelt. Sowohl bei Menschen als auch bei Pflan-

zenfressern finden sich häufig Incrustationen von Speiseresten mit anorganischen Salzen, Concretionen von Haaren, harzigen Massen und Fasern der genossenen Stengel und Blätter und kleinere oder grössere Darmsteine, bei Pferden bis über 5 Kilogr. von Gewicht. Diese Darmsteine und Incrustationen bestehen fast ausschliesslich aus phosphorsaurem Magnesia-Ammoniak $PO_4MgNH_4 + 6H_2O$; an menschlichen Darmsteinen sieht man zuweilen*) grosse wohl ausgebildete Krystalle des letzteren Salzes. Die Darmsteine von Pferden enthalten nur Spuren von Kalkphosphat. Man untersucht die Darmsteine und Incrustationen wie die Harnsteine (vergl. §§ 257—259); natürlich ist die Prüfung auf Harnsäure, Cystin, Xanthin u. s. w. überflüssig.

Abscheidungen von blauen Vivianitkörnchen im Darminhalt von Leichen ist zuweilen beobachtet.

Die Concremente, welche unter dem Namen echter Bezoare sehr selten aus dem Orient nach Europa gekommen sind und von denen angegeben wird, dass sie Darmsteine der Antilope Dorcas und Capra aegagrus seien, bestehen ganz aus Lithofellinsäure neben Spuren von grünem Farbstoff, wohl Gallenfarbstoff, und etwas Schleim. Sie sind olivenfarbig, concentrisch geschichtet, wachsglänzend auf dem Bruch, in heissem Alkohol leicht löslich; ihre Untersuchung siehe bei Lithofellinsäure § 142.

---

6. Untersuchung der Organe und Gewebe.

Knochen, Zahnsubstanzen und Verkalkungen.

Nachweis und Bestimmung der organischen Bestandtheile.

319. Da Knochen- und Zahnsubstanzen, sowie die Verkalkungen, die sich in verschiedenen Organen pathologisch bilden können, stets Phosphorsäure, Kohlensäure, Kalk und Magnesia, mit Ausnahme des Schmelzes auch stets leimgebendes Gewebe enthalten, wäre es überflüssig, mit Rücksicht auf diese Stoffe eine qualitative Untersuchung dieser Körper anzustellen. Zweifelt man jedoch, ob man es mit einer Verkalkung oder Verknöcherung zu thun hat, ist insbesondere das mikroskopische Kennzeichen der Knochen, die Knochenkörperchen, nicht deutlich nachzuweisen, so würde wenigstens die Untersuchung auf leimgebendes Gewebe nicht überflüssig sein.

Zur Untersuchung auf leimgebendes Gewebe in Knochen

*) Ein schöner Fall von Virchow beschrieben und abgebildet in Arch. f. pathol. Anat. Bd. 20 S. 403. 1860.

oder verkalkten Stücken von Organen reinigt man dieselben zunächst möglichst sorgfältig von den sie umgebenden Gewebstheilen, zerstösst ein Stück zu grobem Pulver, zieht dasselbe mit Alkohol und Aether aus, um Fette zu entfernen, und giesst dann verdünnte Salzsäure auf. Man erkennt nach einiger Zeit am Ansehen der Masse leicht, ob die Kalksalze völlig ausgezogen sind, und wäscht dann mit vielen Portionen Wasser den Rückstand so lange aus, bis das Waschwasser keine saure Reaction mehr zeigt. Die auf diese Weise von Kalksalzen völlig befreite Substanz wird dann mit Wasser in einem Kolben einige Zeit im Kochen erhalten oder noch besser damit in ein Glasrohr eingeschmolzen und etwa 24 Stunden im Wasserbade bei 100° oder im Oelbade bei 105—110° digerirt. Man filtrirt dann kochend heiss die Lösung durch ein Faltenfilter, wäscht mit kochendem Wasser aus, concentrirt das Filtrat im Wasserbade und lässt einige Stunden kalt stehen. Enthielt die verkalkte Masse u. dgl. leimgebendes Gewebe, so wird das concentrirte Filtrat nach dem Erkalten zur steifen Gallert gestehen und die Gallert, in heissem Wasser gelöst, die in § 183 beschriebenen Reactionen des Glutins geben.

Zur quantitativen Bestimmung des Gehaltes an leimgebendem Gewebe in Knochen u. s. w. verfährt man mit der gereinigten, insbesondere von Periost sorgfältig getrennten, zerstossenen und bei 110° getrocknet gewogenen Masse in gleicher Weise, verdunstet dann das Leim enthaltende Filtrat zur Trockne, trocknet im Luftbade bei 110° und wägt.

Die Bestimmung des Fettgehaltes besteht in einer einfachen Extraction einer getrocknet gewogenen Portion des Knochenpulvers mit Aether, Filtration, Auswaschen mit Aether, Verdunsten des Aetherauszugs, Trocknen des Fettrückstandes und Wägen desselben.

Die anorganischen Bestandtheile der Knochen, Zähne und Verkalkungen.

320. Ausser Phosphorsäure, Kohlensäure, Kalk und Magnesia finden sich in Knochen und Zähnen noch Spuren von Fluor und Chlor. Diese Stoffe erfordern eine kleine Abweichung von dem Gange der Analyse der Aschen, die sich im Uebrigen auf die Knochen ohne Weiteres anwenden lässt.

Knochenstücke oder Zahnsubstanz, welche auf ihre anorganischen Bestandtheile untersucht werden sollen, sind nach möglichster Reinigung zum Pulver zerstossen zunächst durch Waschen mit Wasser, dann mit Alkohol und Aether von löslichen Salzen und Fetten möglichst zu befreien.

1) Man behandelt dann einen Theil der Substanz mit verdünnter reiner Salpetersäure und erkennt am Aussehen des Knochenpulvers, ob völlige Lösung der Kalksalze stattgefunden hat, darauf filtrirt man ab, wäscht den Rückstand mit Wasser aus, und fällt im Filtrat das Chlor durch salpetersaures Silberoxyd. Die Quantität Chlor, die sich findet, kann nur unbedeutend sein; will man sie bestimmen, so erhitzt man die Flüssigkeit kurze Zeit auf dem Wasserbade, bis der Niederschlag sich gut abgesetzt hat, filtrirt durch ein kleines Filter, sammelt darauf den Niederschlag, wäscht mit Wasser aus, trocknet, glüht u. s. w., wie es im § 207 angegeben ist.

2) Ueber den Nachweis des Fluor ist im § 15 das Nöthige angegeben. Die organischen Substanzen sind aus den Knochen durch Veraschen zu entfernen, ehe mit Schwefelsäure im Platintiegel versetzt und auf Fluor geprüft wird.

3) Zur Ermittelung des Kohlensäuregehaltes der Knochen wird eine bei 110° getrocknete und gewogene Portion des Knochenpulvers u. dgl. in der Weise behandelt, wie es in § 215 für Aschen beschrieben ist. Es ist zweckmässig, etwa 5 gr oder noch mehr zu dieser Bestimmung zu verwenden. Man hat dabei nicht zu befürchten, dass die organische Substanz mit der verdünnten Salzsäure Kohlensäure entwickelt, während dagegen die Bestimmung der Kohlensäure in Knochen u. dgl. nach dem Veraschen derselben ein zu niedriges Resultat giebt*).

4) Zur Bestimmung des Gehaltes der Knochen an Phosphorsäure, Kalk, Magnesia, Eisenoxyd verascht man am Besten eine gewogene Portion, etwa 3—6 gr des gereinigten und getrockneten Knochenpulvers im Porcellantiegel, restituirt nach dem Erkalten die fortgegangene Kohlensäure durch Befeuchten mit kohlensaurem Ammoniak, trocknet und erhitzt wieder bis zum gelinden Glühen, lässt erkalten und wägt die ganze Asche, löst sie dann im Becherglase in verdünnter Salzsäure und filtrirt, wenn noch Kohle sich zeigen sollte, dieselbe durch ein gewogenes aschefreies Filter ab und wäscht mit Wasser gut aus. Die Kohle wird mit dem Filter getrocknet, gewogen und in der Berechnung von dem Gewichte der Knochenasche abgezogen. Die klare salzsaure Lösung macht man dann mit Aetzammoniak zunächst alkalisch und fügt dann wieder Essigsäure hinzu, so lange sich noch etwas vom Niederschlage löst. Ein etwa ungelöst bleibender Niederschlag von phosphorsaurem Eisenoxyd wird auf einem kleinen Filter

*) Vergl. F. Wibel, Das Verhalten des Calciumphosphats zu Calciumcarbonat in höherer Temperatur. Ber. d. deutsch. chem. Gesellsch. Bd. 7 S. 220. 1874.

gesammelt, ausgewaschen, getrocknet, geglüht, gewogen und als phosphorsaures Eisenoxyd berechnet. In der abfiltrirten Lösung wird dann durch oxalsaures Ammoniak der Kalk völlig ausgefällt, Flüssigkeit und Niederschlag auf dem Wasserbade einige Zeit digerirt, dann abfiltrirt, der Niederschlag auf dem Filter gesammelt, gewaschen, getrocknet, geglüht u. s. w., wie es in § 205 beschrieben ist. Das gesammelte Filtrat und Waschwasser wird dann zunächst auf ein kleines Volumen auf dem Wasserbade oder über kleiner Flamme abgedampft, mit Aetzammoniak sehr stark übersättigt, 24 Stunden kalt stehen gelassen, dann filtrirt, der Niederschlag auf dem Filter gesammelt, mit verdünntem Aetzammoniak gewaschen, getrocknet und in einer Platindrahtspirale oder im kleinen Platin- oder Porcellantiegel geglüht, gewogen (vergl. § 206).

Die von dem phosphorsauren Magnesium-Ammonium abfiltrirte Flüssigkeit enthält noch die Phosphorsäure, welche mit dem Kalk im Knochen verbunden war. Man fällt dieselbe nöthigenfalls nach nochmaligem Einengen der Flüssigkeit durch ammoniakalische Magnesialösung (schwefelsaure Magnesia, Chlorammonium, überschüssiges Aetzammoniak), lässt kalt 24 Stunden stehen, filtrirt und behandelt den Niederschlag wie den vorigen.

Man erhält sonach aus derselben Portion getrockneten Knochenpulvers die Gewichte 1) der ganzen anorganischen Bestandtheile, 2) des phosphorsauren Eisenoxyds, 3) des Kalkes als kohlensauren Kalk, 4) der pyrophosphorsauren Magnesia, 5) der Phosphorsäure des Kalkes als zweite Portion pyrophosphorsaurer Magnesia. Nach der Tabelle II im Anhang berechnet man aus diesen Werthen die Magnesia aus der vierten Wägung, die Phosphorsäure aus der vierten und fünften, den Kalk aus der dritten Wägung und erhält so den Gehalt der Knochen an phosphorsaurem Eisenoxyd, Kalk, Magnesia, Phosphorsäure.

Man berechnet nun gewöhnlich die anorganischen Salze der Knochen, Zähne u. s. w. in der Weise, dass, wenn alle Säuren und Basen für 100 Gewichtstheile Knochen berechnet sind, man zunächst annimmt, dass die Magnesia an Phosphorsäure entsprechend der Formel $P_2O_8Mg_3$ gebunden sei, so dass 1 Gewichtstheil Magnesia 2,1833 Gewichtstheilen phosphorsaurer Magnesia entspricht; die hierzu erforderliche Phosphorsäure wird von der in 100 Theilen Knochen gefundenen subtrahirt und der Rest als $P_2O_8Ca_3$ berechnet, so dass 1 Gewichtstheil P_2O_5 2,1831 Gewichtstheilen $P_2O_8Ca_3$ entspricht. Zieht man den für die Berechnung nöthigen Kalk von dem in 100 Theilen Knochen gefundenen Kalkgewichte ab, so erhält man das Gewicht Kalk als Rest, welches an Chlor, Fluor und Kohlensäure gebunden war. Hat man nun den Gehalt der Knochen

an Kohlensäure durch einen gesonderten Versuch bestimmt, so berechnet man die in 100 Gewichtstheilen Knochen gefundene Kohlensäure als kohlensauren Kalk CO_3Ca und ebenso den gefundenen Chlorgehalt als Chlorcalcium. 1 Gewichtstheil CO_2 entspricht 2,2727 Gewichtstheilen CO_3Ca und 1 Gewichtstheil Chlor entspricht 1,5634 Gewichtstheilen Cl_2Ca; der dann übrig bleibende Rest von Kalk wird als Fluorcalcium in Rechnung gestellt; 1 Gewichtstheil CaO entspricht 1,39286 Gewichtstheilen Fl_2Ca.

Frische gut gereinigte Knochen scheinen nie Eisen zu enthalten; dasselbe findet sich dagegen als Phosphat nicht selten in fossilen Zähnen, zuweilen sogar in erheblicher Quantität.

Wenn es an der erforderlichen Substanz mangelt, um die Bestimmung der Kohlensäure, des Chlors und der übrigen anorganischen Bestandtheile in gesonderten Portionen auszuführen, wie es beschrieben ist, so verfährt man am Zweckmässigsten in der Weise, dass man die Fluorcalciumberechnung ganz aufgiebt, auch die Kohlensäure aus dem Verluste berechnet, die gewogene Knochenpulverportion verascht, die Asche in Salpetersäure löst, durch salpetersaures Silberoxyd das Chlor fällt, das Chlorsilber in der oben angegebenen Weise behandelt, im Filtrate durch Salzsäure das Silber ausfällt, filtrirt und in der so erhaltenen Flüssigkeit Phosphorsäure, Kalk u. s. w. bestimmt.

Man kann auch in der Asche der Knochen im Fresenius-Will'schen Apparate erst mit Salpetersäure die Kohlensäure austreiben und durch den Gewichtsverlust des Apparates bestimmen*), in der salpetersauren Lösung dann noch Chlor und die anderen Aschenbestandtheile bestimmen.

Da der Chlorgehalt in den Zähnen und besonders in den Knochen ein sehr geringer ist, so wird man bei Knochenuntersuchungen diese Probe meist ganz unterlassen können.

Das Chlorcalcium ist an sich in Wasser leicht löslich, in dem Zahnschmelz zeigt sich jedoch ein geringer Gehalt an Chlorcalcium in gleicher Weise mit phosphorsaurem Kalke wie im Apatite und vielen anderen Mineralien verbunden.

Die in Wasser löslichen Substanzen der Knochen und Zähne haben so wenig Charakteristisches, dass es überflüssig wäre, für ihre Untersuchung Methoden anzugeben. In osteomalacischen Knochen hat C. Schmidt Milchsäure gefunden und durch diese bedingte saure Reaction der Knochenflüssigkeit. Zur Prüfung auf Milchsäure würde man die Knochen zerstossen, mit Wasser extrahiren und dann nach § 40 auf Milchsäure untersuchen müssen.

Knochen, welche längere Zeit in der Erde gelegen, sind oft von Vivianit blau gefärbt; der Nachweis des Eisenoxyduls (vergl. § 8) ergiebt hierfür die Erkennung.

Untersuchung der Muskeln, drüsiger Organe, Leber, Niere, Lunge, Milz.

321. Die Zusammensetzung der Muskeln, Drüsen, Lunge, Milz u. s. w. bietet so viel Uebereinstimmendes, dass eine nicht geringe

*) Siehe Fresenius, Anleitung zur quantitativen Analyse. 6. Aufl. S. 446.

Zahl von Untersuchungsmethoden für alle diese Organe Anwendung finden kann und nur die Nervensubstanzen eine gesonderte Besprechung erheischen. Ueber die Fermente der Labdrüsen und des Pankreas ist schon oben in §§ 197 u. folg. das Erforderliche angegeben. Diastatisches Ferment findet sich in sehr zahlreichen Organen, wenn nach ihrer Zerkleinerung mit kaltem Wasser extrahirt und das Filtrat mit Stärkekleister kurze Zeit stehen gelassen wird. Man prüft dann mit Natronlauge und etwas Kupfervitriol im Sieden nach § 52. Sind Eiweissstoffe reichlich in Lösung, so hindern sie leicht die Ausscheidung von etwas Kupferoxydul.

Unter den Bestandtheilen der bezeichneten Organe sind in erster Linie verschiedene Albuminstoffe zu nennen; es kommen in Betracht: Serumalbumin, Myosin, Serumglobulin, Muskelglobulin (vergl. oben § 166), Pepton. Von den Proteïden ist Oxyhämoglobin in der Substanz verschiedener Muskeln, Mucin in den Submaxillar- und Sublingualdrüsen enthalten. Nucleïne (beziehungsweise Nucleoalbumine, Nucleohistone) finden sich in grösserer oder geringerer Quantität in allen Organen. Von Kohlehydraten finden sich Glycogen und seine Spaltungsproducte Dextrin, Maltose, Traubenzucker. Eine in den Organen allgemein verbreitete Gruppe von Stoffen sind Lecithin, Fette, Seifen, Cholesterin. Kreatin, Kreatinin, Taurin, Harnsäure sind in vielen Organen gefunden, in anderen vermisst. Hypoxanthin, Adenin, Xanthin, Guanin scheinen stets zu den Nucleïnen in naher Beziehung zu stehen und werden bei der Zersetzung der meisten dieser eigenthümlichen Stoffe besonders reichlich erhalten. Fleischmilchsäure*), ein wichtiger Bestandtheil der Muskeln, findet sich auch in anderen Organen. Leucin, Tyrosin, Hydroparacumarsäure, Indol, Skatol scheinen nur pathologisch oder nur in zweifelhaften Spuren in den Organen aufzutreten oder Producte der nach dem Absterben bereits erfolgenden Fäulniss zu sein, dagegen findet sich Inosit normaler Weise in vielen Organen.

Es ist in allen Fällen von Wichtigkeit, die zu untersuchenden Organe so frisch als möglich in Arbeit zu nehmen, aber sie auch so gut als möglich von Fascien, Sehnen, Blutgefässen, Nerven u. s. w. durch schnelles Präpariren zu befreien. Die Entfernung des Blutes aus den Organen von menschlichen Leichen gelingt nicht. Ist der Tod durch Verbluten erfolgt, so sind die Verhältnisse für die Untersuchung der Organe am Günstigsten. Dasselbe ist der Fall mit exstirpirten

*) Fleischmilchsäure ensteht nach den Untersuchungen von Nencki und Sieber (Monatshefte f. Chem. Bd. 10 S. 532) auch durch die Einwirkung von Bacterien auf Traubenzucker.

Geschwülsten, Muskeln amputirter Theile. Leitet man durch in die Arterien eingebundene Canülen einen Strom verdünnter Chlornatriumlösung (5—10 gr NaCl auf 1 Liter Wasser) durch die noch nicht abgestorbenen Muskeln, Drüsen u. s. w., so kann man in günstigen Fällen die Blutkörperchen aus den Blutgefässen vollständig ausspülen, auch die Plasmabestandtheile werden entfernt, aber die verdünnte Salzlösung entführt nicht allein Bestandtheile des Organs selbst, sondern bewirkt, wenn das Leben noch fortbesteht, Veränderungen in den chemischen Vorgängen des normalen Organs. Es ist dieses Ausspülen des Blutes aus den Gefässen mit verdünnter Salzlösung nur in ganz speciellen Fällen und nicht für quantitative Untersuchungen zulässig oder zweckmässig.

Steht etwas Blut von dem Individuum, dessen Organe untersucht werden sollen, zur Verfügung, so kann durch Auswaschen eines gewogenen Theils vom zum Brei zerkleinerten gewogenen Organe mit Wasser und colorimetrische Vergleichung mit dem Blute, welches mit gemessenen Wassermengen verdünnt wird (vergl. oben § 273 und § 278), der Gehalt des Organs an Blut bestimmt und ausserdem nach ausgeführter Bestimmung der Bestandtheile des Blutes auch von den Blutbestandtheilen ermittelt werden, wie viel von jedem derselben (ausser dem Blutfarbstoff) im Organe zurückgeblieben ist. Auf diesem Wege ist z. B. der Gehalt von Hunde- und Kaninchenmuskeln an Serumalbumin bestimmt.*)

Die Zerkleinerung der Organe durch Messer und Schere ist mühsam und zu zeitraubend. Das Zerreiben der grob zerstückelten Masse mit Glasstücken oder Sand gelingt ziemlich schnell und gut, es geht aber leicht der abgeriebene Kiesel- oder Glasstaub als Trübung durchs Filter, wenn wässerige Auszüge des Organbreies filtrirt werden. Das Zerreissen und Zerschneiden in der Fleischzerkleinerungsmaschine ist sehr schnell ausführbar, aber gleichmässiger, in beliebiger Feinheit und auch nicht langsam gelingt die Zerkleinerung mit schwerem Hackemesser auf einem Brett aus hartem Holze.

Auswahl und Aufeinanderfolge der Untersuchungsmethoden.

322. Zur Bestimmung des Wassergehaltes wird eine Portion von 5—10 gr des Organbreies gewogen, in einer Porcellanschale in dünner Schicht mit einem Spatel oder Glasstäbchen ausgebreitet, bei 50—70° zunächst im Luftbad oder Wasserbad getrocknet, dann auf 105—110° erhitzt erhalten, nach dem Erkalten über Schwefelsäure

---

*) Demant, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 4 S. 384.

gewogen, wieder bei letzterer Temperatur getrocknet, gewogen und dies wiederholt, bis das Gewicht constant ist. Es ist nicht zweckmässsig, diesen Rückstand, wie es noch viel geschieht, fein zu pulverisiren und zur Besimmung des Fettes u. s. w. zu verwenden, ebenso wenig ihn zu veraschen und die Aschenquantität zu bestimmen, weil getrocknete Massen sich schwer vollkommen mit Aether extrahiren lassen, und die beim Verbrennen der ganzen Masse durch Einwirkung der Phosphorsäure des Lecithin und Nucleïn und Bildung von Schwefelsäure aus Eiweissstoffen, Keratin u. s. w. hervorgerufenen Veränderungen in der Zusammensetzung der anorganischen Bestandtheile sehr störend sein können. In allen Fällen ist zur Darstellung der Aether-, Alkohol- und Wasserauszüge und zur Veraschung der einzelnen Extractrückstände aus einem gewogenen Theil des Organbreies, der nicht zu klein bemessen werden darf, der Gang besonders empfehlenswerth, welcher in § 268 für seröse Flüssigkeiten eingehend geschildert ist. Durch dieses Verfahren erhält man die Bestimmung des Gehaltes im Organ an Lecithin, Cholesterin, Fetten, einzelnen anorganischen Bestandtheilen (die Aschen des Alkohol- und Wasserauszugs sind zur Analyse zu vereinigen), wenn die Analyse der Aschen durchgeführt wird.

Zur Untersuchung der Albuminstoffe ist eine besondere Portion des Organbreies zu verwenden, eine andere Portion desselben zur Untersuchung auf Glycogen, wieder eine andere zur Aufsuchung und Bestimmung von Kreatin, Hypoxanthin, Adenin, Xanthin und Guanin nach Neubauer und Anderen. Bestimmung des Zuckers und der Milchsäure kann mit der Untersuchung auf Glycogen aus derselben Portion geschehen. Für Nucleïn und die bei seiner Zersetzung entstehenden Hypoxanthin, Adenin, Xanthin, Guanin sind wieder gesonderte Portionen erforderlich, mit letzterer kann die Untersuchung auf Harnsäure zugleich ausgeführt werden. Die Untersuchung auf Harnstoff, Leucin, Tyrosin, Taurin, Hydroparacumarsäure, Pepton, Lecithin, Cholesterin, Fette kann mit einer Portion des Organbreies ausgeführt werden. Hinsichtlich der Albuminstoffe vergl. den folgenden Paragraphen, für die Darstellung von Glycogen aus Organen sind in § 58, über die der Milchsäure in § 40, über die des Harnstoffs in § 77 die Vorschriften gegeben. Inosit kann man neben Kreatin sowie neben Milchsäure nach dem Verfahren von Boedeker (vergl. oben § 135) gewinnen. Zur Untersuchung flüchtiger fetter Säuren bringt man den Organbrei in das 5—10fache Gewicht Wasser, säuert mit verdünnter Schwefelsäure an, filtrirt durch Leinwand, destillirt den Auszug und untersucht das Destillat nach § 34.

Untersuchung der Albuminstoffe in Muskeln und andern Organen.

323. Zur Untersuchung der verschiedenen Albuminstoffe wird die zum Brei zerkleinerte Masse successive mit Wasser, Salzlösung und sehr verdünnter Salzsäure oder sehr verdünnter Alkalilauge behandelt. Man trägt den Brei in die ungefähr doppelt so grosse Menge eiskalten Wassers ein, stösst und reibt das Gemenge in der Reibschale zusammen, lässt unter häufigem Umrühren einige Stunden bei sehr niedriger Temperatur stehen, filtrirt dann zuerst durch locker gewebte Leinwand, presst aus, filtrirt die Flüssigkeit durch Papier. Die rückständige Masse wird dann mit grösseren Wasserquantitäten mehrmals noch in gleicher Weise behandelt, die abfiltrirten wässerigen Lösungen aber nur dann mit dem ersten Filtrate vereinigt, wenn quantitative Bestimmung der einzelnen Albuminstoffe ausgeführt werden soll. Die ausgepresste Muskel- oder Drüsenmasse wird nun zur Extraction von Globulinen, besonders Myosin, mit einer Lösung von Chlorammonium (120—150 gr in Wasser gelöst und zu 1 Liter verdünnt) übergossen, zusammengerieben und geknetet, unter häufigem Umrühren einige Stunden stehen gelassen, dann abfiltrirt, ausgepresst, noch 2- oder 3mal in gleicher Weise mit neuen Portionen Chlorammoniumlösung behandelt, ausgepresst und nun durch Behandlung mit viel Wasser das Chlorammonium aus der rückständigen Organmasse möglichst entfernt. Dieselbe wird dann ausgepresst in Wasser gebracht, dem 4 CC. reine rauchende Salzsäure für 1 Liter Lösung zugesetzt sind, gut zusammengerieben, dann abfiltrirt und noch mehrmals mit neuen Portionen dieser ungefähr 1 p. M. HCl enthaltenden Lösung behandelt, so lange dieselbe noch mehr als Spuren von Eiweissstoff aufnimmt, der bei Neutralisation einer Probe mit Natriumcarbonat oder auf Zusatz von Ferrocyankalium zur sauren Lösung ausfällt. Mit Wasser wird dann die ausgepresste Masse gewaschen und dann mit Aetzkalilösung von 1—2 gr auf 1 Liter Wasser behandelt, zusammengerieben stehen gelassen, filtrirt, der Rückstand mit Wasser gewaschen, mit einigen Tropfen verdünnter Essigsäure im Wasser gewaschen. Der Rückstand kann von Eiweissstoffen kaum noch etwas enthalten als Fibrin aus dem Blute, welches in den Gefässen des Organes geronnen war, und amyloide Substanz in degenerirten Organen. Anhaltend mit Wasser gekocht verliert der ausgepresste Rückstand seinen Gehalt an Collagen, welches als Glutin in Lösung übergeht und nach genügender Concentration auf dem Wasserbade beim völligen Erkalten zur Gallert erstarrt. Die Sarkolemmschläuche, membranae propriae der Drüsenschläuche, elastischen Fasern und Keratin bleiben in ihrer mikroskopischen Structur kaum verändert zurück.

Bei dieser Behandlung, die stets bei sehr niedriger Temperatur auszuführen ist, werden erhalten 1) Kaltwasserauszug, 2) Chlorammoniumlösung, 3) Lösung in Salzsäure von 1 p. M. und 4) Lösung in Kalilösung von 1—2 p. M. Werden Muskeln auf die beschriebene Weise behandelt, so kann man sehr häufig mit Chlorammoniumlösung behandeln, immer wird der letzte Auszug noch Globulinsubstanz enthalten. Das früher übliche Extrahiren des Organbreies mit NaCl-Lösung ist noch viel weniger günstig als das von Danilewski für das Myosin mit Recht empfohlene Chlorammonium (vergl. oben § 164).*) Die verdünnte Aetzkalilösung ist schnell zu filtriren und dann sofort mit Essigsäure sehr schwach anzusäuern.

1. Im ersten Kaltwasserauszuge können sich von Eiweissstoffen und Proteïden befinden: Serumalbumin, Serumglobulin, Muskelglobulin, Moysin, Mucin, Nucleohistone, Propeptone, Peptone. War das Organ noch bluthaltig, so enthält der Wasserauszug auch den Blutfarbstoff, an seiner Farbe sofort zu erkennen. Mucin wird in einer Probe durch Essigsäure nachgewiesen, es entsteht ein faserig flockiger, in überschüssiger Essigsäure unlöslicher, auf Zusatz von Chlornatriumlösung quellender und dann sich lösender Niederschlag. Nucleohiston fällt ebenfalls auf Zusatz von Essigsäure. Eine andere Probe wird in einem Probirglas oder Kolben mit eingesetztem Thermometer langsam im Wasserbade erwärmt. Trübung und flockiger Niederschlag bei 45—48° zeigt die Anwesenheit von Muskelglobulin an. Das Coagulum wird abfiltrirt und das Filtrat im Probirglas oder Kolben langsam weiter erhitzt. Flockiger Niederschlag bei 55°, nachdem schon früher Trübung eingetreten, zeigt Myosin an. Es wird abermals filtrirt und weiter erhitzt, Trübung in den 60er Graden und flockige Fällung bei 72—75° geben Serumalbumin und Serumglobulin an. Ist Blutfarbstoff zugegen, so giebt derselbe gleichfalls bei dieser Temperatur Coagula, scheidet sich aber erst beim Sieden vollständig aus.

Eine dritte Probe wird mit Magnesiumsulfat vollständig gesättigt, dann filtrirt, der Niederschlag mit gesättigter Magnesiumsulfatlösung gewaschen, dann in nicht zu viel Wasser gelöst. Enthält der Niederschlag nur Myosin und Muskelglobulin, so wird beim vorsichtigen Erwärmen bei 55—56° alle Globulinsubstanz ausgefällt, ist dagegen auch Serumglobulin zugegen, so tritt über 60° von Neuem Trübung ein und flockige Fällung bei 73—75°.

Da Muskelglobulin durch Sättigung der Lösung mit Chlornatrium nicht gefällt wird, kann in einer Portion der Flüssigkeit durch dies Salz

*) Vergl. auch Danilewski, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 7 S. 124.

das Myosin vollständig gefällt werden, nach Filtration und Zusatz von Wasser durch Erwärmen auf 48° sicherer constatirt werden, ob Muskelglobulin zugegen ist oder die in der nicht mit NaCl gefällten Flüssigkeit erhaltene Trübung nur von Myosin bewirkt war.

2. Aus dem Auszug des Organbreies mit Chlorammoniumlösung wird durch Sättigung mit NaCl (Einstellen eines Steinsalzprisma) die Globulinsubstanz gefällt, filtrirt, der Niederschlag mit etwas Wasser gelöst und durch vorsichtiges Erwärmen zunächst auf 55°, dann höher ermittelt, ob Myosin oder Serumglobulin oder beide zugegen sind.

3. Die Lösung in sehr verdünnter Salzsäure wird durch vorsichtige Neutralisation mit Natriumcarbonat gefällt, der Niederschlag gut mit Wasser gewaschen, reagirt neutral, wenn er aus Syntonin besteht, beharrlich sauer, wenn er Albuminat enthält. Albuminat als feuchter Niederschlag mit $CaCO_3$ in der Reibschale zusammengerieben, löst Calcium auf, so dass die filtrirte Lösung mit Natriumcarbonat Niederschlag von Calciumcarbonat giebt.

4. Die Aetzkalilösung giebt beim Neutralisiren Niederschlag, wenn sie Acidalbumin enthält, Albuminat fällt erst beim Ansäuern nieder. Die weitere Unterscheidung wie in 3.

Die angegebenen Trennungen der einzelnen Eiweissstoffe in den Auszügen sind auch für annähernde quantitative Bestimmung brauchbar, nur sind die Globulinsubstanzen mit Chlorammoniumlösung so wenig als mit andern neutralen Salzlösungen quantitativ zu extrahiren, es bleibt im Rückstand ein Theil derselben zurück, der in den Auszug mit sehr verdünnter Salzsäure als Syntonin übergeht. Man kann deshalb das Gewicht des in der sauren Lösung gefundenen Albuminstoffs zu den Globulinen fast in allen Fällen addiren.

Propeptone und Peptone sucht man im Kaltwasserauszug des Organbreies mit Hülfe der in §§ 172—178 angegebenen Reactionen auf.

Untersuchung auf Nucleïne.

324. Darstellung des Nucleïns*). Der Brei des zerkleinerten Organs wird zunächst schnell mit kaltem Wasser ausgezogen, so lange die Flüssigkeit Oxyhämoglobin aufnimmt, dann mit sehr verdünnter Salzsäure (4—8 CC. reine rauchende Salzsäure auf 1 Liter Wasser) extrahirt, mit Wasser ausgewaschen und ausgepresst. Der ausgepresste Rückstand wird bei kalter Temperatur mit sehr verdünnter Kali- oder Natronlauge (2 gr auf 1 Liter Wasser) zusammengerieben, schnell filtrirt und sofort

*) Med. chem. Untersuchungen, herausgegeben von Hoppe-Seyler. S. 488.

in verdünnter Salzsäure das Filtrat aufgefangen, so dass es sogleich übersättigt wird. Das sich flockig abscheidende Nucleïn wird abfiltrirt, zunächst mit sehr verdünnter Salzsäure, dann mit Alkohol und etwas Aether gewaschen, alkoholfeucht mit der Luftpumpe über Schwefelsäure getrocknet. Man kann auch aus dem Gewebe zuerst die Hauptmasse des Eiweiss durch künstliche Verdauung mit Pepsinchlorwasserstoffsäure entfernen, den Rückstand mit sehr verdünntem Ammoniak aufnehmen, filtriren, mit Salzsäure fällen, den Niederschlag nochmals mit künstlichem Magensaft verdauen, das Ungelöste wieder mit Ammoniak behandeln und die ammoniakalische Lösung in Salzsäure filtriren (Hammarsten). Diese Darstellungsweisen sind unsicher, indem sich stets ein grosser Theil der Nucleïne zersetzt.

Bestimmung des Nucleïn durch seine Phosphorsäure nach Kossel.[1])

Ungefähr 15 gr des Organbreies werden abgewogen, in geräumiger Reibschale mit ein wenig Gerbsäurelösung und ungefähr 10 CC. verdünnter Salzsäure (von ungefähr 5 pCt. HCl) übergossen und gut durchgeknetet. Der Brei wird dann durch kleines, mit verdünnter Salzsäure ausgespültes Filter filtrirt, mit viel verdünnter Salzsäure, dann mit siedendem Alkohol, zuletzt mit Aether extrahirt. Von den letzten Portionen des salzsauren, des ätherischen und des alkoholischen Extractes werden Proben eingedampft, mit Soda und Salpeter verascht; diese dürfen höchstens noch geringe Spuren von Phosphorsäure enthalten. Die extrahirte Organmasse wird ätherfeucht in eine geräumige Platinschale gebracht, und der Aether entzündet. Die Masse wird hierbei grösstentheils verkohlt. Der Rückstand mit Salpeter und Soda versetzt wird dann verbrannt, die Schmelze in Wasser gelöst, mit Salpetersäure angesäuert, mit phosphormolybdänsaurem Ammoniak gefällt und weiter verfahren, wie es § 209 beschrieben ist. Aus dem Gewicht der pyrophosphorsauren Magnesia ergiebt sich nach Tabelle II im Anhang die Quantität der im betreffenden Organe dem Nucleïn zugehörigen Phosphorsäure.

Bestimmung der beim Kochen mit verdünnter Säure aus den Organen erhaltenen Nucleïnbasen und Harnsäure nach Kossel.[2])

50—500 gr vom Brei des zu untersuchenden Organs werden mit Wasser, dem für je 1 Liter 5—10 gr concentrirte Schwefelsäure zu-

[1]) Zeitsch. f. phyiol. Chem. Bd. 7 S. 9.
[2]) Kossel, Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 423.
Schindler, ebendas. Bd. 13 S. 433.
Bruhns, ebendas. Bd. 14 S. 533.

gesetzt ist, 3—4 Stunden im Dampfkochtopf gekocht. Die erkaltete Flüssigkeit wird filtrirt, der Filterrückstand mehrmals mit siedendem Wasser ausgezogen, die gesammten Filtrate vereinigt und mit Barytwasser alkalisch gemacht. Der überschüssige Baryt wird durch Kohlensäure entfernt, filtrirt, der Filterrückstand mehrfach mit siedendem Wasser extrahirt, die vereinigten Filtrate zu ungefähr 300 CC. eingedampft. Man versetzt nun mit grossem Ueberschuss von Ammoniak und lässt 24 Stunden bedeckt stehen. Der abfiltrirte Ammoniak-Niederschlag aber, welcher Harnsäure und einen Theil der Nucleïnbasen enthalten kann, wird mit Salzsäure übergossen 2 Tage stehen gelassen, dann die die Nucleïnbasen enthaltende Flüssigkeit abfiltrirt; wenn Harnsäure vorhanden ist, bleibt sie in gefärbten Krystallen zurück. Die Harnsäure [1]) wird mit Wasser gewaschen, getrocknet und gewogen, die salzsauren Filtrate werden auf sehr kleines Volumen eingedampft, mit überschüssigem Ammoniak versetzt, mit dem Filtrat des oben erwähnten Ammoniak-Niederschlags vereinigt und mit Silbernitrat vollständig gefällt [2]).

Will man nur auf Nucleïnbasen, nicht auf Harnsäure untersuchen, so fällt man am Besten das Filtrat des mit verdünnter Schwefelsäure gekochten Organbreies mit basischem Bleiacetat aus, filtrirt, wäscht aus, leitet durch das Filtrat Schwefelwasserstoff, filtrirt wieder, dampft auf ungefähr 300 CC. ein, übersättigt mit Ammoniak und fällt mit Silbernitrat vollständig aus.

Der Niederschlag, welcher die Silberverbindungen von Adenin, Hypoxanthin, Guanin und Xanthin enthält, wird abfiltrirt, mit ammoniakhaltigem Wasser ausgewaschen und dann, Niederschlag und Filter jedes für sich, mit Salpetersäure von spec. Gewicht 1,1 unter Zusatz von Harnstoff (um Nitrirung zu vermeiden) erwärmt. Aus der heiss filtrirten Flüssigkeit scheiden sich beim Erkalten die Silberdoppelverbindungen von Adenin, Hypoxanthin und Guanin aus. Dieselben werden abfiltrirt und mit kaltem Wasser gewaschen; aus dem Filtrat, welches die entsprechende Xanthinverbindung gelöst enthält, fällt auf Zusatz von überschüssigem Ammoniak Xanthinsilber aus. Dasselbe wird auf gewogenem Filter gesammelt, getrocknet und gewogen. Die Silberdoppelverbindungen der drei andern Basen werden mit heissem verdünnten Ammoniak vom Filter in eine Schale gespült, längere Zeit auf dem Wasserbad digerirt und dann mit etwas salpetersaurem Silber versetzt. Nach dem Erkalten filtrirt man die auf diese Weise wieder hergestellten Silberverbindungen

---

[1]) Kleine Mengen von Harnsäure können bei Anwendung dieser Methode sich der Bestimmung entziehen.

[2]) Wenn die Silberniederschläge sich nicht gut abscheiden und trübe Filtrate liefern, ist es zweckmässig etwas Alkohol zuzusetzen.

ab und wäscht mit Wasser, bis das Filtrat auf Zusatz von Salzsäure keine Trübung mehr giebt. Jetzt wird der rein weisse Filterrückstand in Wasser suspendirt und, nachdem man zum Sieden erhitzt hat, durch tropfenweisen Zusatz von Schwefelammoniumlösung zersetzt. Ein Ueberschuss von Schwefelammonium ist zu vermeiden, das Absitzen des Schwefelsilbers muss in der Wärme geschehen. Die abfiltrirte klare, farblose Flüssigkeit enthält Adenin und Hypoxanthin völlig in Lösung, Guanin ist nur zum Theil (a) gelöst, ein anderer Theil (b) ist in den Schwefelsilberniederschlag übergegangen. Man kocht deshalb diesen Niederschlag mit verdünnter Salzsäure aus und sättigt das Filtrat mit Ammoniak, nach einiger Zeit fällt das Guanin (b) völlig aus. Das in Lösung befindliche Guanin (a) wird nach der Digestion mit Ammoniak auf dem Wasserbad ausgeschieden. Man vereinigt beide Portionen auf einem bei 110° getrockneten und gewogenen Filter, wäscht mit ammoniakhaltigem Wasser gut aus, trocknet und wägt. Das ammoniakalische Filtrat, welches Adenin und Hypoxanthin enthält, wird nach Zusatz eines Tropfens wässeriger Methylorangelösung tropfenweise mit verdünnter Säure bis zum Auftreten von Rothfärbung und nun mit einer kalten concentrirten Lösung von Natriumpikrat so lange versetzt, bis die ganze Flüssigkeit sattgelb gefärbt ist. Jetzt filtrirt man den entstandenen Niederschlag von pikrinsaurem Adenin, am Besten mit Hülfe einer Saugpumpe, durch gewogenes Filter ab, wäscht mit Wasser, bis das Filter von aussen betrachtet nicht mehr gelb erscheint (das Filtrat bleibt stets gelblich), trocknet bei über 100° und wägt. Aus der Formel des pikrinsauren Adenin $C_5 H_5 N_5 . C_6 H_2 (NO_2)_3 OH$ kann man leicht die Menge des Adenin berechnen; zu der gefundenen Quantität Adenin muss man für je 100 CC. Filtrat 2,4 mgr Adenin hinzuaddiren. Für die Hypoxanthinbestimmung wird für den Fall, dass keine Salzsäure zugegen ist, das Filtrat vom Adeninpikratniederschlag zum Sieden erhitzt und allmälig mit Silbernitratlösung versetzt. Nach dem Erkalten wird noch mit etwas Silbernitrat auf Vollständigkeit der Fällung geprüft, filtrirt, mit kaltem Wasser bis zur Farblosigkeit des Filtrats ausgewaschen und bei 100° getrocknet. Der Niederschlag besteht aus Hypoxanthinsilberpikrat $C_5 H_3 Ag N_4 O . C_6 H_2 (NO_2)_3 OH$; daraus berechnet sich leicht die entsprechende Menge Hypoxanthin; von der so erhaltenen Quantität Hypoxanthin muss man 1,0 mgr abziehen.

Quantitative Bestimmung von Kreatin, Nucleïnbasen, Inosit, Taurin, Kreatinin und Milchsäure in Organen nach Neubauer u. Anderen.

325. Für die Gewinnung von Kreatin und Kreatinin aus Muskeln ist zuerst von Liebig[1]) ein Verfahren beschrieben, welches lange Zeit auch für Versuche quantitativer Bestimmung benutzt ist. Von Strecker[2]) wurde dann der Weg zur Abscheidung und Gewinnung des Hypoxanthin angegeben. Scherer[3]) und Städeler[4]) wiesen diese Stoffe sowie Xanthin und Guanin auch in Drüsen nach und veränderten theilweise die Methode der Darstellung und Trennung der einzelnen Körper. Von Neubauer[5]) wurde dann ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung von Kreatin, Xanthin und Hypoxanthin in Muskeln gegeben, welches im Uebrigen gute Resultate liefert, aber nur die wahrscheinlich präformirten Quantitäten von Hypoxanthin und Xanthin in Betracht zieht, nicht die viel grösseren Mengen, welche, wie Kossel[6]) später fand, erst beim Kochen der Organe mit Säure aus den Nucleïnverbindungen abgespalten werden. Im Folgenden ist das Verfahren von Neubauer mit einigen wesentlichen, nicht allein das Guanin betreffenden Abänderungen beschrieben. Dasselbe ist auch für Leber, Lunge, Nieren, Milz u. s. w. anwendbar, doch wird es sich immer empfehlen, etwas grössere Quantitäten der Organe in Arbeit zu nehmen, wo sie zu Gebote stehen.

200—500 gr oder mehr vom Brei des zerkleinerten frischen Organs werden mit dem ungefähr gleichen Gewicht Wasser gründlich gemengt und im Wasserbade unter stetem Umrühren auf 55—60° erhitzt. Die Flüssigkeit wird dann colirt, der Rückstand mit der Hand in kleinen Portionen ausgepresst, wieder mit 60—80 CC. Wasser angerührt und zum zweiten Male gründlich ausgepresst. Die vereinigten Flüssigkeiten werden dann über freiem Feuer unter Umrühren zur völligen Coagulation der Albuminstoffe erhitzt und nach dem Erkalten filtrirt. Das Filtrat wird mit Bleiessig gefällt, so lange ein Niederschlag entsteht, grosser Ueberschuss des Bleiessigs ist jedoch dabei zu vermeiden, dann filtrirt, das Filtrat durch SH_2 von Blei befreit und nach Abfiltriren des Bleiniederschlages die Flüssigkeit, ohne dass sie zum Sieden erhitzt wird, eingedampft bis auf 5—10 CC. Volumen. Man lässt die so concentrirte gelbliche, dünn syrupöse Flüssigkeit 2—3 Tage an einem

---

1) J. v. Liebig, Chem. Untersuchungen über das Fleisch etc. Heidelberg 1847. Ann. Chem. Pharm. Bd. 62 S. 257.

2) Ann. Chem. Pharm. Bd. 102 S. 204.

3) Ebendas. Bd. 107 S. 314 u. Bd. 112 S. 276.

4) Ebendas. Bd. 116 S. 102.

5) Zeitschr. f. anal. Chem. Bd. 2 S. 26 u. Bd. 6 S. 33.

6) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 6 S. 422.

kühlen Orte zur Krystallisation stehen. Die gebildeten Kreatinkrystalle sammelt man auf einem gewogenen Filter, wäscht zuerst mit 88 procentigem Alkohol aus, trocknet bei 100 ° und wägt das Filter mit dem entwässerten Kreatin. Die vom Kreatin abfiltrirte Mutterlauge mit der alkoholischen Waschflüssigkeit kann nun entweder 1) durch Abdampfen von Alkohol befreit, mit Wasser verdünnt, mit überschüssigem Ammoniak versetzt werden, um in derselben Weise zur Bestimmung von Harnsäure, Hypoxanthin, Adenin, Guanin und Xanthin zu dienen, wie es am Ende des vorigen Paragraphen beschrieben ist, oder 2) sie kann nach Boedeker's Verfahren (vergl. oben § 135) für die Darstellung des Inosit benutzt werden; sie kann 3) Verwendung finden zur Bestimmung oder Nachweis von Taurin, Kreatinin und von Milchsäure. Für diesen letztgenannten Zweck wird die Flüssigkeit mit etwas Bariumcarbonat versetzt, zur Trockne verdampft und der Rückstand mit absolutem Alkohol ausgezogen, so lange derselbe noch etwas löst. Das milchsaure Salz löst sich auf, ebenso Kreatinin; Taurin bleibt dagegen ungelöst.

Aus der alkalischen Lösung wird nach Zusatz von ein wenig alkoholischer Chlorzinklösung beim Stehen 2 Tage lang das Kreatinin in Verbindung mit Chlorzink abgeschieden. Die abfiltrirte alkoholische Lösung wird zur Trockne im Wasserbade verdampft, der Rückstand mit Phosphorsäure versetzt, durch Ausschütteln mit mehreren Portionen Aether die Milchsäure aufgenommen und weiterhin behandelt nach dem § 40 S. 45 angegebenen Verfahren, schliesslich die freie Säure mit Wasser und Zinkcarbonat in das Zinksalz oder mit Calciumcarbonat in das Kalksalz verwandelt, gewogen, Krystallwassergehalt und Sättigungscapacität bestimmt.

Der das Taurin enthaltende, in Alkohol unlösliche Rückstand wird in wenig Wasser gelöst, durch langsames Verdunsten Krystallisation zu erhalten gesucht. Vielleicht wird durch Kochen mit Quecksilberoxyd in wässeriger Lösung am Besten eine Abscheidung erreicht (vergl. § 94 S. 137). Der bedeutende Schwefelgehalt und entsprechende Schwefelsäurebildung beim Verbrennen mit Soda und Salpeter (vergl. § 23) erleichtert die Auffindung selbst sehr kleiner Quantitäten von Taurin.

Trennung und Bestimmung von Glycogen, Dextrin, Maltose, Glucose und Milchsäure.

326. Der Brei des frisch und schnell zerkleinerten Organs (am besten vor der Zerkleinerung gewogen) wird in siedendes Wasser eingetragen, kurze Zeit im Sieden erhalten, dann colirt, der Rückstand in der Reibschale zerrieben, in neue Quantität siedenden Wassers ein-

getragen, einige Minuten im Sieden erhalten und diese Procedur zum dritten Male wiederholt. Diese drei Flüssigkeitsportionen enthalten in allen Fällen die Hauptmenge des Glycogen und ganz das Dextrin, Maltose, Traubenzucker, Milchsäure, wenn diese alle überhaupt vorhanden sind. Handelt es sich nur um Nachweis und Schätzung der Quantität des Glycogens, so werden diese vereinigten und durch Papier filtrirten Flüssigkeitsportionen auf dem Wasserbade auf ein kleines Volumen eingeengt, dann gut erkalten gelassen, mit Salzsäure und Jodquecksilberjodkalium unter Vermeidung eines grossen Ueberschusses von Salzsäure gefällt so lange Niederschlag entsteht, sogleich filtrirt, das Filtrat mit dem dreifachen Volumen starken Alkohol gefällt, der Niederschlag mit absolutem Alkohol gewaschen, über Schwefelsäure getrocknet. In § 58 sind die Eigenschaften des Glycogen, die zum Nachweis benutzt werden, geschildert.

Soll dagegen auf Dextrin, Maltose, Glucose, Milchsäure Rücksicht genommen und sollen die bei der Extraction des Organs in demselben noch zurückgebliebenen Reste des Glycogen, mitbestimmt werden, so wird in folgender Weise verfahren: Zur vollständigen Extraction des Restes vom Glycogen aus den ungelösten Rückständen des Organs sind dieselben der § 58 beschriebenen Kalimethode zu unterwerfen. Die vereinigten ersten drei Flüssigkeitsportionen werden nach Zusatz von etwas Barium- oder Magnesiumcarbonat auf ein kleines Volumen (je nach der Quantität des in Arbeit genommenen Organtheils, ungefähr $^1/_{10}$ seines Volumen) auf dem Wasserbade concentrirt und mit der dreifachen Quantität absoluten Alkohols gefällt, der das Glycogen enthaltende Niederschlag nach gutem Absetzen abfiltrirt. Das Filtrat wird abermals auf sehr kleines Volumen auf dem Wasserbade eingedampft, zuletzt, um Bräunung zu verhindern, nicht über 70°. Die syrupöse Masse wird mit absolutem Alkohol gefällt, nach mehrstündigem Stehen die alkoholische Lösung vom Niederschlage, welcher Dextrin enthalten kann, abgegossen, der Alkohol abdestillirt, auf dem Wasserbade der Rest des Alkohols entfernt, Phosphorsäure und Aether hinzugefügt, die Milchsäure durch mehrere Portionen Aether ausgezogen und nach den Angaben in § 40 (vergl. auch Ende des vorigen Paragraphen) behandelt. Nachdem bei gewöhnlicher Temperatur der Aetherrest vom sauren ungelöst im Aether gebliebenen Syrup verdunstet ist, wird der Syrup in Wasser gelöst, gemessen und in zwei gleiche Hälften getheilt. Die eine derselben wird mit Natriumcarbonat neutralisirt und Fehling'sche Lösung damit titrirt, wie mit einem diabetischen Harn, vergl. § 252. Der andere Theil wird $^1/_4$ Stunde lang unter Ersatz des verdampfenden Wassers im Sieden erhalten, dann mit Natriumcarbonat neutralisirt, wieder auf das

frühere Volumen gebracht und Fehling'sche Lösung damit titrirt. Die Menge der vorhandenen Maltose (vielleicht auch etwas Dextrin) ergiebt sich aus dem Unterschiede beider Titrirungen, insofern die Maltose, bei Einwirkung der Säure in der Siedetemperatur zu Traubenzucker umgewandelt, viel mehr Kupferoxyd reducirt, als so lange sie nicht diese Verwandlung erfahren hat (vergl. oben § 55 und § 59).

Das durch Alkohol gefällte Glycogen wird in Wasser wieder gelöst, die Lösung mit der nach der Kalimethode erhaltenen Glycogenlösung vereinigt. Man neutralisirt, fällt mit Jodquecksilberjodkalium und Salzsäure und verfährt genau in der in § 58 beschriebenen Weise.

Trennung, Nachweis und Bestimmung von Harnstoff, Leucin, Tyrosin.

327. Das zum feinen Brei zerhackte, vorher gewogene Organ wird in das mindestens dreifache Gewicht absoluten Alkohol gebracht, gut umgerührt, auf dem Wasserbade bis zum beginnenden Sieden des Alkohols unter häufigem Umrühren erhitzt, dann einige Stunden zum Erkalten stehen gelassen, die Lösung abfiltrirt und der Rückstand mit mehreren Portionen 80procentigem Alkohol ausgewaschen. Die vereinigten Filtrate werden destillirt, bis der Rückstand ungefähr das Volumen des verwendeten Organbreies hat, dann wird derselbe in eine hochwandige Schale ausgegossen und bei mässiger Temperatur (nicht über 60°) auf dem Wasserbade verdunstet, so dass der Alkohol fast vollständig entweicht. Es wird nun mit Essigsäure angesäuert, mit Chloroform Lecithin, Fette, Cholesterin und freie fette Säuren ausgeschüttelt, die von der Chloroformlösung im Scheidetrichter getrennte wässerige Lösung filtrirt und in der Weise weiter behandelt, wie es im § 55 für die Darstellung von Harnstoff angegeben ist. Bei der Fällung des Harnstoffs u. s. w. mit salpetersaurem Quecksilberoxyd bleiben Leucin und Tyrosin in Lösung. Letztere wird mit etwas Barytwasser versetzt, durch CO_2 der Barytüberschuss gefällt, zum Kochen erhitzt, filtrirt, zum Syrup verdunstet, der Rückstand mit heissem Alkohol ausgezogen, heiss filtrirt, der Alkohol abdestillirt und der Rückstand nach § 93 und § 129 auf Leucin und Tyrosin geprüft.

Gehirn, Rückenmark und Nerven.

328. Die Zusammensetzung von Gehirn und Nerven weicht so sehr von der der übrigen Organe ab, dass sie auch eine andere Behandlung zur Untersuchung und Bestimmung der Bestandtheile verlangen. Da sie oberflächlich sehr leicht eintrocknen, die getrocknete Schicht dann aus dem Innern das Wasser schwer entweichen lässt, durch

Erhitzen auf 100° aber theilweise Zersetzung erfolgt, so lange Wasser vorhanden ist, wird die Bestimmung des Wassers und der Summe der festen Bestandtheile zweckmässig in dünnen flachen Schichten des Breies der zerriebenen Masse in einer Porcellanschale oder einem Uhrglas ausgeführt, indem zunächst die gewogene Masse mit Alkohol übergossen, dann verdunstet, wieder mit Alkohol übergossen und verdunstet wird. Die hierdurch coagulirte Substanz trocknet dann auch über Schwefelsäure viel leichter und gleichmässiger, kann hierauf im Luftbade zunächst unter 60°, schliesslich bis über 100° ohne Zersetzung getrocknet werden.

Directe Verkohlung und Veraschung führen zu Aschen, in denen wohl Kalium, Natrium, Calcium, Magnesium aber keine Säuren bestimmt werden können, weil die Phosphorsäure des sehr reichlich vorhandenen Lecithins die übrigen Säuren austreibt und sogar pyrophosphorsaures Salz liefert. Zur Bestimmung der anorganischen Bestandtheile in Gehirn und Nerven ist daher ein Verfahren einzuschlagen, welches das Lecithin vor dem Veraschen von den anorganischen Stoffen trennt, wie es ähnlich der in § 268 beschriebenen Methode zuerst von Geoghegan*) für das Gehirn angewendet ist und zuerst zu einer Kenntniss der anorganischen Stoffe desselben geführt hat. Da dies Verfahren sich auf das Engste dem der Trennung der organischen Bestandtheile anschliesst, soll dies zunächst geschildert, und die weitere Behandlung der Rückstände für die Veraschung im Anschluss hieran angegeben werden.

Die durch anatomische Präparation von den Hüllen und Gefässen möglichst gereinigten Hirn-, Rückenmark- oder Nervenmassen werden zunächst zum feinen Brei in der Reibschale zerrieben, in viel 80procentigen Alkohol gebracht, gut zusammengerührt und unter häufigem Umrühren 2 Tage stehen gelassen, dann filtrirt und mit Weingeist der Rückstand gewaschen. Nach nochmaligem Zerreiben wird der Rückstand in Aether gebracht und 2 Tage unter öfterem Umschütteln stehen gelassen, 3—4mal neue Aethermengen aufgegossen, umgeschüttelt und abgegossen. Der ungelöste Rückstand wird dann mit 85procentigem Alkohol mehrere Stunden auf 45—50° erwärmt; man filtrirt heiss und wiederholt diese Extraktion mit neuen Mengen Alkohol so lange, als noch wesentliche Mengen der Substanz extrahirt werden. Der jetzt bleibende Rückstand wird mit siedendem Alkohol ausgekocht, heiss abfiltrirt und nun in Wasser gebracht und erwärmt; er giebt an das Wasser wenig feste Stoffe ab, auch nur ein geringer Theil anorganischer Salze findet sich

*) Zeitschr. f. physiol Chem. Bd. 1 S. 332.

darin. Die noch ungelöst zurückgebliebenen Substanzen enthalten coagulirte Albuminstoffe, Nucleïn, Neurokeratin und unbekannte Stoffe, von anorganischen Salzen Calcium- und Magnesiumphosphat.

Der erste weingeistige Auszug wird zunächst durch Destillation, dann nach Zusatz von ein wenig reinem Bariumcarbonat (dieser Zusatz hat den Zweck, die freie Säure (Milchsäure) zu neutralisiren, damit durch sie nicht Lecithin zersetzt wird) auf dem Wasserbad zwischen 50 und 60° eingeengt, der schleimige syrupöse Rückstand mit mehreren Portionen Aether gut ausgezogen. Lecithin und etwas Cholesterin gehen in den Aether über. Diese Aetherlösungen werden mit den direkt aus der Nervensubstanz erhaltenen Aetherauszügen vereinigt. Die mit (50°) warmem Alkohol hergestellten Auszüge geben beim Erkalten auf 0° einen weissen Niederschlag von Protagon. Aus dem hinreichend eingeengten Filtrat dieses Protagonniederschlags, desgleichen aus den mit kochendem Alkohol hergestellten Auszügen scheiden sich beim Erkalten Protagon, Zersetzungsproducte des Protagon, Cerebrin, Lecithin und offenbar eine Reihe noch ungenügend bekannter Stoffe ab. Die von diesen Niederschlägen abfiltrirten alkoholischen Lösungen geben beim weiteren Verdunsten auf dem Wasserbad nur geringe Mengen organischer Stoffe und anorganischer Salze, sofern der Nervenbrei von vornherein gut mit Weingeist erschöpft war. Diese Rückstände, ebenso die erwähnten beim Erkalten der alkoholischen Filtrate abgeschiedenen Substanzen werden mit Aether mehrmals ausgezogen, die ätherische Lösung zu den übrigen Aetherauszügen hinzugebracht. Von den gesammelten Aetherauszügen wird der Aether abdestillirt, der Rückstand mit alkoholischer Kalilauge gekocht, dann der Alkohol auf dem Wasserbad verjagt, der Rückstand in nicht zu wenig Wasser gelöst, Cholesterin mit Aetherportionen ausgeschüttelt, dann die wässerige Lösung auf dem Wasserbad zum Syrup abgedampft, dieser mit reinem Salpeter in einer Platinschale gemischt und verbrannt, die Schmelze in Wasser gelöst und die gebildete Phosphorsäure bestimmt, wenn es sich um Bestimmung des Lecithin handelt, vergl. oben § 24 und § 63 am Ende. Wünscht man die Glycerinphosphorsäure, die fetten Säuren und das Cholin zu isoliren, so kocht man den Rückstand des Aetherauszugs mit heiss gesättigter Aetzbarytlösung eine Stunde lang und trennt die einzelnen Spaltungsproducte nach § 63 von einander.

Ueber die Gewinnung der Cerebrine aus dem Protagon und der Galactose und des Cetylids aus den Cerebrinen siehe oben § 106.

Die von Protagon, Cholesterin, Lecithin und andern unbekannten in Alkohol und Aether löslichen Bestandtheilen befreiten Extractrückstände

können sowohl zur Darstellung des Neurokeratin, als auch zur Bestimmung der anorganischen Stoffe benutzt werden. Zu letzterem Zweck wird die ungelöst gebliebene Masse mit etwas völlig reinem kohlensauren oder salpetersauren Baryt (derselbe darf kein Calcium, Magnesium, Kalium, Natrium enthalten) gut gemischt und gleichfalls in einer Platinschale verbrannt. Werden dann in dieser letzteren Asche Calcium, Magnesium und Phosphorsäure bestimmt, so ergiebt sich eine Quantität von Phosphorsäure, welche durch Calcium und Magnesium nicht gesättigt ist; dieselbe hat dem Nucleïn der Nervensubstanz zugehört. Im Uebrigen enthalten die Hirnaschen relativ viel Chlorkalium, phosphorsaures Kali, phosphor- und kohlensaures Natron, sehr wenig schwefelsaures Salz.

Zur Darstellung des Neurokeratin nach Kühne und Chittenden*) unterwirft man die ungelöst gebliebenen Bestandtheile mehrere Tage lang nach einander der Pepsin- und der Trypsinverdauung, kocht $^1/_2$ Stunde mit 5procentiger Sodalösung, filtrirt, wäscht mit Wasser und lässt zur Auflösung des Nucleïn 48 Stunden in 0,5procentiger Kalilauge stehen. Nach dem Dekantiren, Filtriren und Auswaschen mit Wasser wird der Brei wiederholt mit Alkohol unter Zusatz von etwas Eisessig ausgekocht, nochmals mit Kalilauge und zwar 5procentiger 2 Tage lang behandelt, mit Wasser, Essigsäure, Wasser, Alkohol und Aether gewaschen. Es gelingt indessen nicht ein von jeder Spur fettiger Substanzen freies Neurokeratin auf diese Weise zu erhalten. Zur Untersuchung auf Harnstoff, Keratin, Inosit, Harnsäure, Nucleïnbasen, Milchsäure ist es nicht praktisch, das Gehirn u. s. w. mit Barytwasser zu kochen, wie es früher empfohlen ist, sondern nach obiger Methode zu verfahren. Der Auszug mit kaltem Weingeist nach der Behandlung des Rückstandes mit Aether zur Extraction des Lecithin und Cholesterin, ferner der Wasserauszug, welcher nach der Behandlung der Organmasse mit Aether und heissem Alkohol angefertigt wird, enthalten diese Stoffe und ihre Untersuchung wird nach den Methoden ausgeführt, welche bei der Schilderung der einzelnen Stoffe selbst oder bei der Beschreibung der Methoden zur Untersuchung der Muskeln, Drüsen u. s. w. oben angegeben sind. Zur Auffindung der Harnsäure würde die Hirnmasse mit heissem Wasser schliesslich zu extrahiren, zur Gewinnung von Nucleïnbasen noch mit etwas Schwefelsäure zu kochen und nach § 324 zu behandeln sein.

Zur quantitativen Bestimmung der organischen Bestandtheile

*) Zeitschr. f. Biolog. Bd. 26 S. 291.

der Nerven bediente sich J. Chevalier*) eines dem beschriebenen ähnlichen Verfahrens. Circa 30 gr der von Bindegewebe und Fett möglichst befreiten und fein zerkleinerten Nerven werden nacheinander zunächst mit einer Mischung von 2 Theilen absolutem Alkohol und 1 Theil Aether (I), dann mit 50° warmem Alkohol (II) erschöpft, und darauf, nachdem der Alkohol vollkommen verdunstet ist, mit etwas destillirtem Wasser im zugeschmolzenen Glasrohr 12 Stunden auf 120° erhitzt. Die wässerige Lösung (III) wird abfiltrirt, der Rückstand mit Magensaft verdaut, die Verdauungsflüssigkeit (IV) abfiltrirt, der unverdaute Rest kurze Zeit mit Normalnatronlauge behandelt, die alkalische Flüssigkeit (V) von dem ungelöst gebliebenen Neurokeratin abfiltrirt.

Lösung I wird bei einer 50° nicht übersteigenden Temperatur auf dem Wasserbad eingedampft und der Trockenrückstand nach einander mit kaltem Alkohol (I A), Aether (I B) und 55° warmem Alkohol (I C) extrahirt. Die bei 55° eingedampfte Flüssigkeit (I A) hinterlässt einen Trockenrückstand, welcher mit Aether behandelt wird und zum Theil darin löslich ist (I A a), zum Theil nicht (I A b).

Lösung II scheidet beim Erkalten einen Niederschlag (II A) ab, die davon abfiltrirte Flüssigkeit (II B) wird mit I A a und I B vereinigt und in den vereinigten Lösungen bestimmt man nach § 268 Lecithin, Cholesterin und Fettsäure. Die Flüssigkeit I C wird ohne Rücksicht auf etwa auftretende Niederschläge mit den Rückständen beziehungsweise Niederschlägen I A b und II A vereinigt, bei einer Temperatur von nicht über 55° eingedampft, über Schwefelsäure getrocknet und gewogen: Protagon.

Lösung III hinterlässt beim Verdunsten einen Rückstand, welcher bei 120° getrocknet und gewogen wird: Glutin.

Lösung IV wird nach Zusatz einer gewogenen Menge von kohlensaurem Kalk eingedampft, getrocknet und gewogen. Das Gewicht abzüglich des Gewichts des zugesetzten Calciumcarbonat giebt die Menge der in Lösung gegangenen Eiweissstoffe.

Lösung V wird mit verdünnter Salzsäure neutralisirt, eingedampft, bei 120° getrocknet; der Rückstand gewogen, verascht; das Gewicht der Asche abgezogen vom Gewicht des Trockenrückstandes giebt die Menge des Neurilemm, des Nucleïn und anderer in Natronlauge löslicher Substanzen.

Durch Wägung des in Natronlauge unlöslichen Restes erfährt man die Menge des Neurokeratin.

*) Zeitschr. f. physiol. Chem. Bd. 10 S. 97.

Das gefundene Glutin und das den gefundenen Fettsäuren entsprechende Fett (wenigstens der grössere Theil desselben) sind nicht als Bestandtheile der Nervenfaser anzusehen.

Zur quantitativen Bestimmung des Neurokeratin empfehlen Kühne und Chittenden*) folgendes Verfahren: ca. 50 gr vom Bindegewebe möglichst befreites Gehirn oder Nervensubstanz werden mit der 5—6fachen Menge künstlichen Magensafts in einem 700—900 CC. fassenden Scheidetrichter unter häufigem Umschütteln 8—14 Tage lang verdaut und darauf mit Aether geschüttelt. Die wässerige Lösung setzt sich fast immer so klar ab, dass man sie ohne Verlust ablassen kann; man fügt Waschflüssigkeit (0,4 pCt. Salzsäure) hinzu, schüttelt wieder, lässt die klare, wässerige Flüssigkeit ab und wiederholt das 3—4 mal. Ist die Flüssigkeit ausnahmsweise trübe, so filtrirt man sie durch ein gewogenes, bereits in einem später zu heizenden Wärmetrichter befindliches Filter. Durch dieses Filter lässt man dann auch das reichlich mit Alkohol versetzte Magma hindurchgehen. Der Wärmetrichter ist mit einem langen Kautschuckschlauch versehen, welcher in ein entfernt stehendes Gefäss führt und eine Klemme trägt. Man schliesst jetzt die Klemme, bringt Alkohol auf den Trichter, erhitzt, lässt nach einiger Zeit den Alkohol abfliessen, bringt neuen darauf und wiederholt das nochmals; dann löscht man die Flamme und erschöpft den noch längere Zeit warmen Filterinhalt mit Aether. Nach dem Abkühlen wird die Masse wenigstens zwei Tage durch 1—2 Liter Natronlauge von 1 pCt., die man nur nach und nach unten abfliessen lässt, von Nucleïn befreit, dann mit Wasser, verdünnter Salzsäure, wieder mit Wasser, sowohl kaltem wie heissem, endlich wieder mit Alkohol und Aether gewaschen und auf dem Filter erst an der Luft, dann bei 110° getrocknet und gewogen. Das so erhaltene Neurokeratin ist vollständig frei von Myelinstoffen.

Nachweis von Blut in Flecken auf Zeugen, Metall, Holz u. s. w. zu forensischen Zwecken.

329. Eine kleine Portion der für Blut gehaltenen Substanz wird auf dem Objectträger mit einem kleinen Tropfen Wasser zusammengebracht, ein Deckglas aufgelegt und die etwa vorhandenen Formen beobachtet, zugleich constatirt, ob ein rother oder bei starker Verdünnung grünlicher Farbstoff in Lösung übergeht. Nur im Falle, dass diese Farbstofflösung eintritt und die zu Gebote stehende Quantität nicht äusserst gering ist, wendet man sich zunächst zur spektroskopischen

*) a. a. O. S. 306.

Untersuchung. Tritt Lösung von Farbstoff nicht ein, so ist Blut entweder gar nicht vorhanden oder bereits durch Erhitzen, Einwirkung von Säure oder in anderer Weise zersetzt, so dass nur der Nachweis von Hämatin noch geführt werden kann (s. weiter unten).

Eingetrocknete Blutflecke enthalten weder Oxyhämoglobin noch Hämoglobin, sondern allein Methämoglobin, welches in kaltem Wasser löslich ist und bei genügender Concentration der Lösung einen Absorptionsstreif zwischen den Spectrallinien C und D, näher der ersteren Linie, und einen diffusen Streifen zwischen D und E erkennen lässt. Man prüft die gefärbte Lösung, wenn eine solche zu erkennen ist, mit dem Spectromikroskop. Nur wenn reichliches Material in den Blutflecken zur Untersuchung vorliegt, werden diese Streifen in genügend concentrirter Lösung in einem Probirglase betrachtet werden können. Es ist dann auch zweckmässig, die Lösung durch ein sehr kleines Filterchen zu filtriren. Hat man die Streifen deutlich beobachtet, so verdünnt man mit Wasser, bis sie nur noch schwach erkennbar sind, bringt ein Paar Tropfen Schwefelammonium hinzu und findet nun bei der spectroskopischen Prüfung einen Absorptionsstreif des Hämoglobin in der Mitte zwischen D und E. Schüttelt man mit Luft, so treten nun die Oxyhämoglobinstreifen für kurze Zeit im Spectrum auf, verschwinden bald wieder und kehren bei erneutem Schütteln mit Luft zurück. Fügt man zu einem Theil der Mischung einen Tropfen starker Natronlauge und lässt stehen oder erwärmt mässig, so treten die in Fig. 1 No. 3 in § 191 bezeichneten Absorptionen des Hämochromogens deutlich ein, auch noch bei grosser Verdünnung erkennbar.

Sind diese spectroskopischen Erscheinungen alle beobachtet, so ist jeder Zweifel an der Anwesenheit von Blutfarbstoff beseitigt. Ist jedoch das Material nicht ausreichend, so können auch mit viel weniger Substanz die Reactionen in folgender Weise auf dem Objectträger ausgeführt werden. Eine Portion der Flecke wird auf den Objectträger gebracht, ein wenig Wasser zugefügt, mit Schweinefett bestrichene Glasleistchen herumgelegt und ein Deckglas so darüber gedeckt, dass der durch Glas und Fett abgeschlossene Raum neben der Substanz des Fleckes und Wasser wenig oder keine Luft enthält. Wenn auch die Methämoglobinstreifen nicht deutlich bei der spectroskopischen Untersuchung des auf weissem Papier liegenden Objectes zu erkennen sind, lässt man unter einer mit Wasser befeuchteten Glasglocke bei warmer Temperatur zwei bis drei Tage stehen. Durch die Fäulniss wird das Methämoglobin reducirt und es tritt der Streifen des Hämoglobin auf. Hebt man das Deckglas in die Höhe und legt es wieder auf, so erscheinen dann im Spectrum die beiden Oxyhämoglobinstreifen.

Ein kleines Tröpfchen Natronlauge und zugleich ein Tröpfchen Schwefelammonium zur Flüssigkeit gebracht, rufen nach einiger Zeit, wenn die Mischung von der Luft gut abgeschlossen bleibt, das Spectrum des Hämochromogen hervor. Die Untersuchung auf weissem Untergrund ist oft weniger zweckmässig als auf dem Tisch des Mikroskops, wenn der Spiegel helles Licht auf das Object von unten her wirft, der Tubus des Mikroskops mit Ocular und Objectiven entfernt ist und mit Browning'schem Spectroskop senkrecht von oben nach unten beobachtet wird. Die nach Browning angefertigten Taschenspectroskope sind allen anderen Spectralapparaten für diese Untersuchungen weit vorzuziehen.

Ist die Quantität des Untersuchungsmaterials in den Flecken sehr beschränkt oder sind mit einem Theil desselben die beschriebenen spectroskopischen Untersuchungen ausgeführt, so wird ein kleiner Theil der Substanz in einem Uhrglase mit einer Spur Steinsalz und 8 bis 16 Tropfen Eisessig versetzt, die spröde Substanz mit einem Glasstab zerdrückt, dann über kleiner Gasflamme zum beginnenden Sieden erhitzt und auf dem Wasserbade verdampft, bis der Essigsäuregeruch verschwunden ist. Man untersucht dann den Rückstand im Uhrglase bei 300facher Vergrösserung auf die rhombischen, im durchfallenden Lichte braunen, im auffallenden Lichte blauschwarzen Häminkrystalle. Dieselben sind unlöslich in Wasser, Alkohol, Aether, lösen sich leicht in einem Tropfen verdünnter Natronlauge. Die rothe, in dünnerer Schicht grünliche Lösung der Häminkrystalle auf dem Objectträger unter Deckglas oder im Probirglas mit etwas Schwefelammonium kurze Zeit stehen gelassen, zeigt bei der Untersuchung mit dem Spectroskop die beiden Absorptionsstreifen des Hämochromogen; besonders sein Absorptionsstreif ungefähr in der Mitte zwischen D und E ist noch in sehr grosser Verdünnung sicher zu erkennen.

Die Bildung der Häminkrystalle mit Chlornatrium und Eisessig ist eine Eigenschaft des Blutfarbstoffes und seiner nächsten Zersetzungsproducte, welche an sich genügend ist, um ihn nachzuweisen; sie erfolgt stets, wenn getrocknetes unzersetztes Methämoglobin in angegebener Weise behandelt wird. Gekochtes Blut, lufttrocken erhitztes oder mit Säure oder Kali behandeltes Methämoglobin geben diese Häminkrystalle entweder unvollständig, unsicher oder gar nicht. Die einzigen Reactionen, welche unter diesen Verhältnissen übrig bleiben, sind die Lösung in etwas verdünnter Natronlauge zur rothen, in dünner Schicht grünen Flüssigkeit, welche, mit etwas Schwefelammonium versetzt, bald schön hellroth wird und spectroskopisch die Streifen des

Hämochromogen erkennen lässt, welche beim kurzen Schütteln mit Luft verschwinden, beim ruhigen Stehen wieder erscheinen, bei Einwirkung von Leuchtgas in die Streifen des Kohlenoxydhämochromogen übergehen, nach Behandlung der Flüssigkeit mit einer starken Säure nicht wieder hervorgerufen werden, weil hierbei das Hämochromogen in Hämatoporphyrin übergeht (vergl. oben §§ 145, 146, 147, 185—191).

Anhang I.

Optische Untersuchungsmethoden.

Die Benutzung optischer Untersuchungsmethoden haben sich für die Lösung theoretisch- wie practisch-chemischer Fragen bekanntlich ausserordentlich hülfreich erwiesen. Ein hervorragendes Interesse auch für medicinisch-chemische Zwecke verdienen ohne Zweifel die Methoden der Spectraluntersuchungen 1) für die Unterscheidung von Farbstoffen und ihrer zuweilen sehr scharf erkennnbaren Aenderungen der Lichtabsorptionen in Folge relativ geringer chemischer Einwirkungen, 2) für die Auffindung selbst sehr geringer Mengen gewisser Metalle durch die von den glühenden Dämpfen der Metalle ausgestrahlten Lichtarten.

Ebenso sind die Circumpolarisationsuntersuchungen für Aufsuchung und Bestimmung einer grossen Zahl organischer Stoffe in Lösungen von recht hohem Werth. Eine grosse Zahl der Bestandtheile thierischer und pflanzlicher Organismen und ihrer verschiedenen Umwandlungsproducte lassen die Erscheinungen der Circumpolarisation in ihren Lösungen erkennen und mit grösserer oder geringerer Genauigkeit messen. Seltener anwendbar aber zuweilen von grossem Werth ist die Untersuchung der Fluorescenz.

Spectral-Untersuchungen.

Fig. 10 giebt die Ansicht eines grösseren Spectroskops. Dasselbe besteht aus dem Collimatorrohr *a b*, an dessen einem Ende, dem Licht zugekehrt, bei *a* ein verticaler Spalt, durch Micrometerschraube enger oder weiter stellbar, sich befindet, während am andern Ende des Rohrs bei *b* die Collimatorlinse angebracht ist. Der Spalt soll im Brennpunkt der Collimatorlinse liegen.

Das durch den Spalt eintretende Licht wird durch den Collimator parallel gemacht und auf das Prisma *c* geworfen; in diesem Prisma gebrochen und in das Spectrum aufgelöst, treten die Lichtstrahlen in das astronomische Fernrohr *d e* ein, welches gewöhnlich 6—8 malige Vergrösserung hat, und gelangen von da bei *f* zum Auge des Beobachters; am Kopfe des Rohres *g h* bei *h* befindet sich eine feine durch

eine Lampe zu beleuchtende photographirte Scala auf Glas. Ist diese beleuchtet, so stellt ihr Bild von der dem Fernrohre zugekehrten Fläche des Prisma *c* als Spiegel reflectirt sich dem Auge des Beobacters bei *f* dar und zwar horizontal das Gesichtsfeld im Fernrohre theilend.

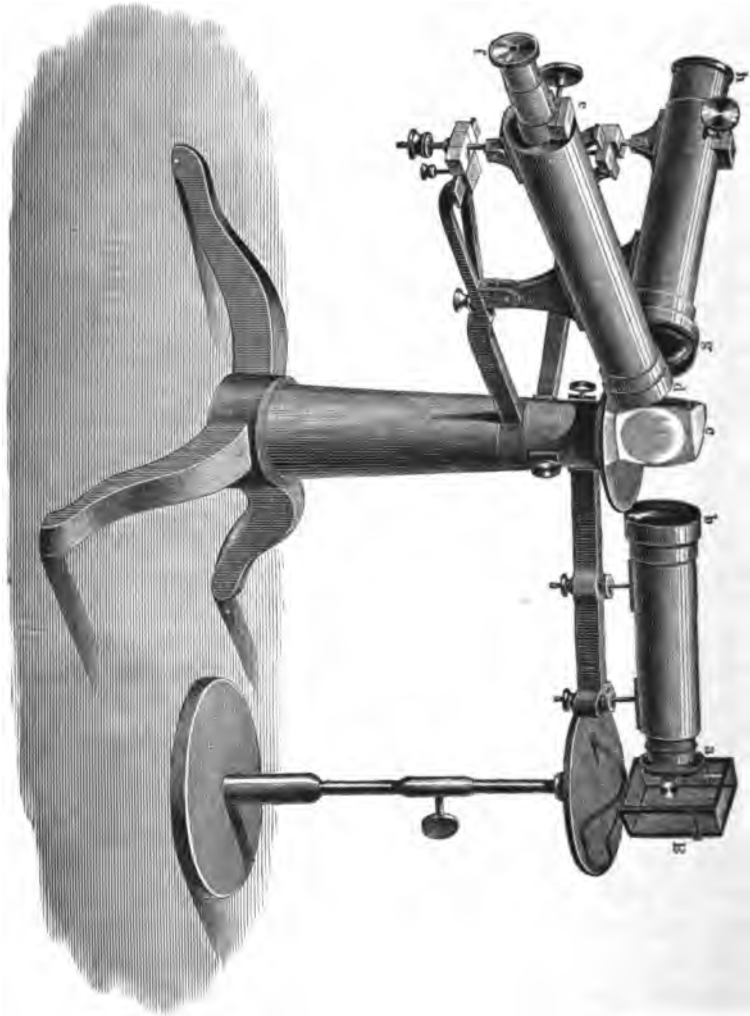


Fig. 10.

Es sind zuweilen zwei oder mehr Prismen im Spectralapparate combinirt angewendet, um eine grössere Dispersion des Spectrum zu erhalten. Für physiologisch-chemische Untersuchungen ist diese Verbreiterung des Spectrum wohl fast immer ohne Nutzen, insbesondere bei Untersuchung der Absorption der Lichtarten durch Farbstoffe. Hat das Prisma eine Neigung seiner Flächen von etwa 60° und besteht es aus hinreichend stark lichtzerstreuendem Glase, so wird es

für jetzt allen Anforderungen für physiologisch-chemische Zwecke genügen, und sowohl starke Dispersion durch mehrere Prismen als stark vergrössernde Fernröhre sind durchaus zu vermeiden, da sie die Absorptionen des Lichtes in Flüssigkeiten weniger scharf zeigen, auch leuchtende Linien von glühenden Metalldämpfen wegen Lichtschwäche oft übersehen lassen, während man dieselben mit schwachem Fernrohre und einem Prisma noch ganz deutlich erkennt.

Um den Apparat richtig einzustellen, entfernt man zunächst das Prisma *c* und sieht in der Richtung von *b* nach *a* durch das erste Rohr bei mässig geöffnetem Spalte; man zieht nun das Rohr mit dem Spalte so weit aus, bis die Ränder des letzteren ganz scharf begrenzt erscheinen, dann stellt man das Fernrohr *d e* so ein, dass man sehr weit entfernte Gegenstände recht deutlich dadurch erkennt, setzt darauf das Prisma wieder an seine Stelle und schiebt bei Beleuchtung der Scala *h* diese mit ihrem Rohre so weit ein, bis die Theilung der Scala bei der Beobachtung durch das Fernrohr möglichst scharf erkannt wird.

Für die meisten physiologischen Zwecke sind die Browning'schen Taschenspectroskope vorzuziehen, besonders wo es sich um Untersuchung von Farbstoffen handelt. Durch Combination verschiedener Prismen ist in diesen sehr bequemen, handlichen Instrumenten dem zum Auge des Beobachters austretenden Licht dieselbe Richtung gegeben, welche das durch den Spalt eintretende Licht besitzt. Die meisten Farbstoffprüfungen kann man mit ihnen schnell auch mit Benutzung von Tageslicht ausführen.

Untersuchung von Farbstoffen mit dem Spectralapparate.

Die zu prüfenden Farbstoffe sind in womöglich concentrirter Lösung in ein Gefäss mit zwei planparallelen Wandungen aus Spiegelglas oder in Flaschen mit planparallelen Seitenwänden zu bringen; Fig. 10 auf S. 508 stellt ein solches Gefäss *B* vor dem Spectralapparate dar. Zur Untersuchung der Flüssigkeit stellt man den mit einem schwarzen Tuche überdeckten Spectralapparat so auf, dass entweder directes Sonnenlicht von einem Heliostaten oder starkes zerstreutes Tageslicht oder das Licht einer hellbrennenden Oellampe in das Spectrum zerlegt im Fernrohre möglichst hell sichtbar wird; durch das Licht einer Kerze oder besser einer Oellampe mit Glascylinder beleuchtet man die Scala bei *h*, so dass auch deren Bild deutlich erkennbar sich mitten durch das Gesichtsfeld im Fernrohre hinzieht. Jetzt stellt man den mit der Farbstofflösung gefüllten Glaskasten dicht vor den Spalt, so dass das Licht senkrecht durch die Glasplatten dieses Gefässes und die enthaltene Flüssigkeitsschicht hindurchgeht, ehe es in den Spalt eintritt. Beobachtet man dann das Spectrum durch das Fernrohr, so wird ein grösserer oder geringerer Theil desselben fehlen, und es ist mittelst der Scala leicht

zu bestimmen, welche Theile desselben durch die Lösung abgehalten werden. Verdünnt man darauf die Farbstofflösung mit Wasser oder einem anderen farblosen Lösungsmittel, so werden bei wiederholter Untersuchung neue Partien des Spectrum sichtbar werden und bei weiter fortgesetzter Verdünnung wird allmälig das ganze Spectrum sich entfalten. Es zeigt sich nun hierbei, dass nur einige Farbstoffe bei weiterer Verdünnung ihrer Lösungen das Spectrum allmälig allseitig oder einseitig weiter und weiter sich entwickeln lassen, während eine grosse Anzahl von Farbstoffen und gerade diejenigen, welche die lebhaftesten Farben zeigen, bei der Verdünnung ein discontinuirliches Spectrum erscheinen lassen, indem sie für bestimmte Stücke des Spectrum sehr kräftige und für nahe dabeiliegende Spectralabschnitte sehr schwache absorbirende Kraft besitzen. Bei gewissen Verdünnungen erscheinen dann ein oder mehrere schmale oder breitere Absorptionsstreifen, auch Spectralbänder genannt, deren Lage und Ausdehnung durch die Scala am Einfachsten bestimmt und mit den Frauenhofer'schen Linien des Sonnenspectrums verglichen werden können.

Spectrophotometrie. Die Untersuchung im Spectrum in der geschilderten Weise giebt vorzügliche Resultate für den sicheren Nachweis einer grossen Zahl von Farbstoffen, besonders des Blutfarbstoffes und einiger seiner Zersetzungsproducte, des Indigo, Chlorophyll, man hat aber auch in neuerer Zeit vielfach das Spectrum für quantitative Farbstoffbestimmungen verwerthet und zu diesem Zweck verschiedene Combinationen von Apparaten benutzt. Hauptsächlich sind hier die Arbeiten von Vierordt[1]) und von Hüfner[2]) zu erwähnen, durch welche diese Apparate vervollkommnet sind[3]).

Untersuchung der Aschen mittelst des Spectrum.

Alle organischen Bestandtheile des Thierkörpers geben in der Spiritusflamme oder der Flamme des Bunsen'schen Brenners verbrannt Licht, welches durch den Spectralapparat in ein continuirliches Spectrum, wie es der Kohlenstoff selbst bei mässiger Glühhitze liefert, zerlegt wird. Nur die Aschenbestandtheile zeigen ein charakteristisches Verhalten, wenn man dieselben von Kohle sorgfältig gereinigt in die Flamme bringt und das von ihnen ausgehende Licht prüft.

---

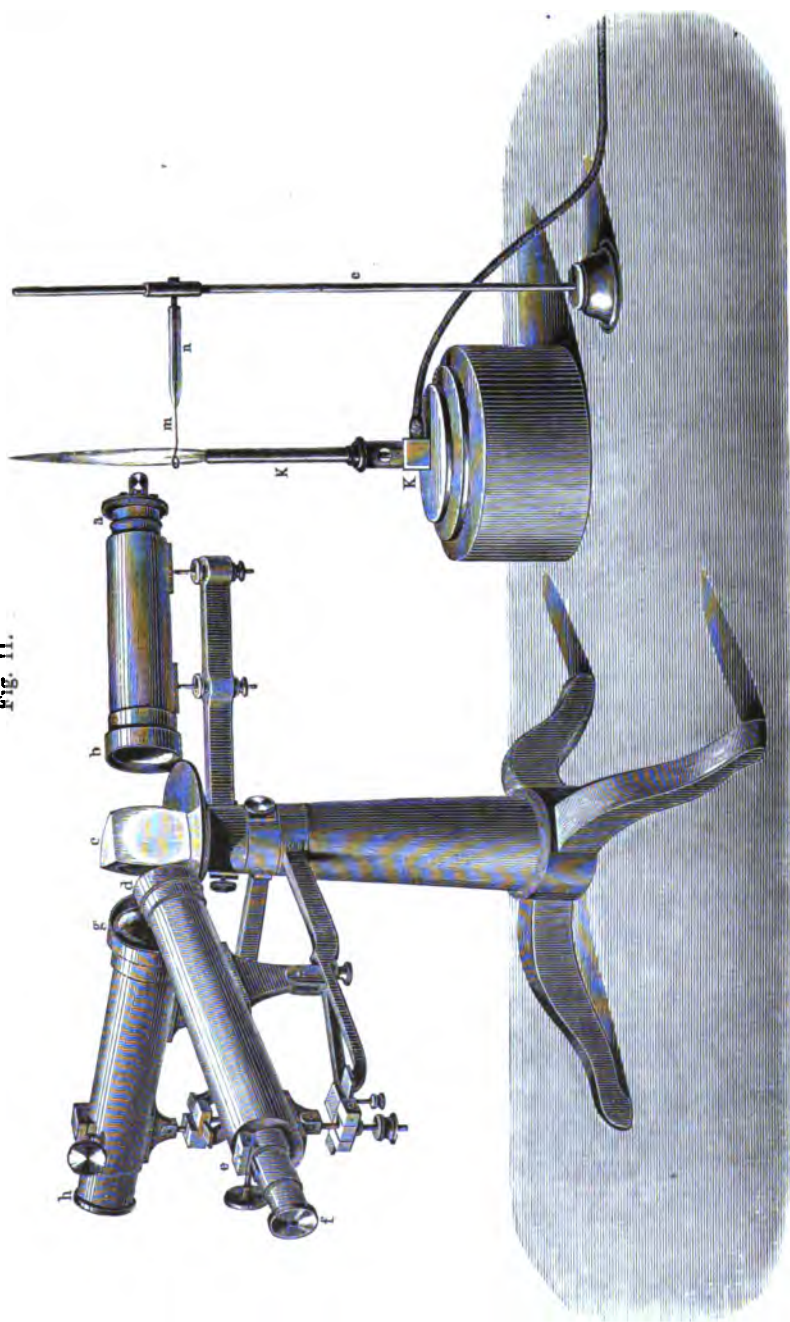
1) K. Vierordt, Die Anwendung des Spectralapparates zur Photometrie der Absorptionsspectren etc. Tübingen 1873. Derselbe, Die quantitative Spectralanalyse etc. Tübingen 1876.

2) Hüfner, Journ. f. pract. Chemie. N. F. Bd. 16 S. 290 und Zeitschr. f. physik. Chemie. Bd. 3 S. 562.

E. Albrecht, Anleitung zum Gebrauch des Hüfner'schen Spectrophotometers etc. Tübingen 1892.

3) G. u. H. Krüss, Kolorimetrie u. quantitat. Spectralanalyse etc. Hamburg u. Leipzig 1891.

Fig. 11.



Das zum Oehr umgebogene Ende eines feinen Platindrahtes wird erst in der Flamme des Brenners ausgeglüht, bis es keine leuchtende Flamme mehr ausgiebt, dann schmilzt man in das Oehr eine Perle von der Asche ein, indem man mit dem zum Glühen erhitzten oder ein wenig mit Wasser befeuchteten Drahte etwas von der Asche aufnimmt, an der Oberfläche der Flamme trocknet und etwas sintern lässt. Man stellt nun, wie es Fig. 11 zeigt, vor dem Spalte *a* des Spectralapparates etwa 5—10 Cm. davon entfernt einen Bunsen'schen Gasbrenner *kk* mit nicht leuchtender Flamme und mit Schornstein versehen so auf, dass 1) die obere Grenze des Schornsteins etwa 2—3 Cm. tiefer als das untere Ende des Spaltes steht und 2) bei verschlossenen Luftlöchern des Brenners (also hellem Leuchten seiner Flamme) ein möglichst strahlendes Spectrum im Fernrohre sichtbar ist. Man öffnet wieder die Luftlöcher am Brenner, nachdem man die richtige Stellung desselben ausfindig gemacht hat, beleuchtet die Scala in *h* am Spectralapparate und bringt nun die Aschenprobe am Platindrahte *m*, welche durch ein Glasröhrchen *n* am Stative *c* befestigt ist, in die Flamme, während man durch das Fernrohr beobachtet. Es wird in allen Fällen ein discontinuirliches Spectrum erscheinen, welches stets mehr oder weniger stark leuchtend die gelbe Natriumlinie enthält. Fast in allen Fällen wird sich daneben auch die rothe Kaliumlinie zeigen. Man bestimmt nun die Lage der vorhandenen Linien nach der Scala und findet dann die Lage dieser Linien im Sonnenspectrum, wenn man Sonnenlicht an Stelle des Brennerlichtes in den Apparat eintreten lässt und die Lage der Frauenhofer'schen Linien an der Scala des Apparates abliest. Statt dessen kann man reines Chlorkalium, Chlorcalcium u. s. w. jedes für sich am reinen Platindrahte in die Flamme des Brenners bringen, die Lage der erscheinenden Linien auf der Scala ablesen und damit die Ergebnisse der Aschenprüfung vergleichen.

An vielen Spectralapparaten befindet sich vor der oberen Hälfte des Spaltes ein dieselbe deckendes kleines Prisma, welches gleichzeitige Beobachtung einer zweiten, seitlich gestellten Flamme oder des Sonnenlichtes gestattet, indem deren Strahlen durch das Prisma gebrochen in den Spalt eintreten und im Uebrigen denselben Weg verfolgen, als die der ersteren Flamme: Es erscheint dann das Spectrum der einen Flamme über, das der anderen unter der Mitte des Gesichtsfeldes im Spectroskop.

Untersuchung der Circumpolarisation.

Während kein einziger in einer Flüssigkeit gelöster oder selbst flüssiger unorganischer Körper Circumpolarisation zeigt und unter den

organischen Stoffen von einfacherer Zusammensetzung nur sehr wenige (z. B. Milchsäure) diese Eigenschaft in geringem Grade besitzen, findet man unter den organischen Stoffen von hohem Moleculargewicht, welche theils die thierischen Gewebe constituiren, theils die hauptsächlichsten Bestandtheile der thierischen Säfte bilden, eine sehr grosse Anzahl circumpolarisirender Körper (Zuckerarten, Leim, Eiweissstoffe u. s. w.). Hat man somit einerseits durch die Beobachtung der Circumpolarisation, hier ganz abgesehen von ihrer hohen stereochemischen Wichtigkeit, ein schnell anwendbares Mittel, um über die Anwesenheit oder das Fehlen gewisser Gruppen von Stoffen in den zu prüfenden Flüssigkeiten Aufschluss zu erhalten, so ergiebt ferner die Bestimmung der spec. Drehung eines Körpers unter dem Einflusse gewisser Agentien auf diesen Körper eins der sichersten und feinsten Hülfsmittel zur Unterscheidung chemischer Stoffe von einander, sowie zur Beurtheilung der Veränderungen, welche diese Körper unter der Einwirkung gewisser Processe erfahren. Endlich dient die Bestimmung der Circumpolarisation zur schnellen Feststellung des Gehaltes einer Flüssigkeit an dem einen oder anderen Körper, als: Glucose, Albumin. Die Beobachtung der Circumpolarisation erfordert kaum eine Minute Zeit und bedingt bei einiger Vorsicht keinen Verlust der zu prüfenden Flüssigkeit.

Ein Haupterforderniss für diese Untersuchung ist, dass die Lösungen klar, durchsichtig und möglichst farblos sind; schwach gelbe Färbung thut keinen erheblichen Eintrag an Genauigkeit, wohl aber rothe oder braune Färbung. Die einzelnen zur Entfärbung und Klärung anwendbaren Agentien sind bei den einzelnen Untersuchungen auf Glucose, Gallensäuren, Albumin angegeben.

Mit der zu prüfenden Lösung füllt man die Untersuchungsröhre, deren Länge man nach der Klarheit und Tiefe der Färbung der Flüssigkeit auswählt. Da die Bestimmung um so genauer ausfällt, je länger die vom Lichte durchwanderte Flüssigkeitsschicht ist, wählt man eine Röhre von möglichster Länge, nach deren Füllung aber beleuchtete Gegenstände beim Hindurchsehen durch die Flüssigkeitsschicht in der Röhre scharf unterschieden werden können. Röhren von 2, 1 und $1/_2$ Decimeter Länge des in der Röhre eingeschlossenen Raumes sind die gewöhnlich zu diesen Untersuchungen benutzten und zweckmässigsten. Fig. 12 stellt ein solches Rohr im Durchschnitte dar. Die Kappen aus Metall, welche auf die Enden der Röhre aufgeschraubt sind, haben eine mindestens 5 Mm. weite runde Durchbohrung und drücken durch einen eingelegten Kautschukring eine runde Glasplatte gegen den gerade abgeschliffenen Rand der Röhre; sie dürfen nicht zu fest aufgeschraubt werden. Das mit der Flüssigkeit zu füllende Rohr ist zweck-

mässig umgeben von einem wasserdicht aufgesetzten weiten Rohr, in welches bei *a* ein Thermometer eingesetzt wird. Um bei bestimmter Temperatur die Beobachtung ausführen zu können, lässt man Wasser von der gewünschten Temperatur bei *b* ein- und bei *c* austreten durch angefügte Kautschukschläuche.

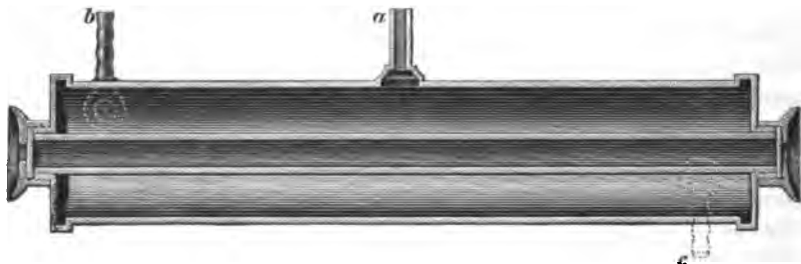


Fig. 12.

Als Lichtquelle für diese Beobachtungen dient am Besten eine mit Rüböl oder Steinöl gespeiste Lampe, da Gasflammen weniger ruhig brennen; wenn, wie bei Wild's Polaristrobometer und Halbschattenapparaten, einfarbiges Licht für die Untersuchung erforderlich ist, dient ein Bunsen'scher Gasbrenner mit sehr schwach leuchtender Flamme, in welcher Soda oder Kochsalz erhitzt wird und welche gelbes Natriumlicht liefert. Um nach allen übrigen Seiten als der dem Circumpolarisationsapparate zugekehrten das Licht abzuhalten, umgiebt man Flamme und Glascylinder noch mit einem aussen geschwärzten Thoncylinder oder Schornstein von Eisenblech, welcher nur durch einen runden seitlichen Ausschnitt Licht in den Polarisationsapparat sendet.*)

Polaristrobometer.

Von den verschiedenen Instrumenten, die zur Messung der Circumpolarisation des Lichtes angewendet sind, verdienen vor allen übrigen den Vorzug für physiologische und pathologische Zwecke 1) das Soleil'sche Saccharimeter, 2) das Polaristrobometer von Wild, 3) die Halbschattenapparate. Viel einfacher, billiger, aber nur für gröbere Bestimmungen ausreichend ist das kleinere Instrument von Mitscherlich. Dies letztere besteht aus einem feststehenden Nicol'schen Prisma, einer planconvexen Glaslinse und einem drehbaren Nicol'schen Prisma. Das erste Prisma polarisirt das Licht, mit dem zweiten untersucht man

*) Die Apparate und Untersuchungsmethoden der Circularpolarisation sind eingehend geschildert und die Apparate durch Abbildungen erläutert in H. Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen etc. Braunschweig 1879.

die Lage der Polarisationsebene des von der Linse kommenden Lichtes; das zweite Prisma befindet sich deswegen im Centrum eines in Grade getheilten Kreises, in welchem es mittelst einer Handhabe wie die Axe in einem Rade gedreht werden kann. Ein am Prisma befestigter Zeiger, wo möglich mit Nonius versehen, dient dazu, die Drehung des Prisma an der Kreistheilung beobachten zu lassen.

Zur Ausführung einer Beobachtung stellt man den Apparat mit dem Tubus, welcher das erste Prisma enthält, dicht an die Lampe, so dass das Licht durch das erste Nicol'sche Prisma, die Linse, das zweite Prisma und zum Auge des Beobachters an demselben gelangt. Ist der Apparat gut eingestellt, so wird ein verticaler schwarzer Streif das umgekehrte Bild der Flamme, welches die Mitte des Gesichtsfeldes einnehmen soll, in zwei gleiche Theile trennen, wenn der Zeiger an der Kreistheilung auf 0° oder 180° gestellt ist. Bei jeder anderen Stellung dieses Zeigers ist der schwarze Streif (das Zeichen, dass beide Nicols gekreuzte Stellung haben) entweder gar nicht oder wenigstens nicht in der Mitte des Gesichtsfeldes sichtbar. Man legt nun die mit der zu prüfenden Flüssigkeit gefüllte Röhre zwischen Linse und zweites Prisma so auf die dafür vorhandenen Träger, dass das Lampenlicht von der Linse kommend durch die Länge der Röhre zum zweiten Prisma und dem Auge des Beobachters gelangt. Ist auch jetzt noch der schwarze Streif in der Mitte des Gesichtsfeldes, während der Zeiger auf 0° steht, so ist die untersuchte Flüssigkeit nicht circumpolarisirend, ist er aber entweder seitlich verschoben oder bei keiner Drehung des zweiten Prisma aufzufinden, so ist im ersten Falle schwache, im zweiten starke Circumpolarisation damit erwiesen. Man wird dann nicht mehr allein Hell und Dunkel zu unterscheiden haben, sondern es tritt bei verschiedener Einstellung des zweiten Nicol farbiges Licht auf, dessen Färbung in bestimmter Folge mit der Drehung des Prisma sich ändert. Ist bei irgend einer Stellung des Prisma der schwarze Streif noch zu finden, so wird auf seiner einen Seite rothes, auf der anderen blaues Licht bemerkbar sein; man dreht das Prisma jetzt, bis der Streif wieder in der Mitte des Gesichtsfeldes steht, und liest ab, welche Stellung der Zeiger an der Gradeintheilung angiebt. Er zeigt in Graden ausgedrückt die durch die Flüssigkeit bewirkte Drehung für gelbes Licht an.

Ist aber der schwarze Streif bei keiner Stellung des analysirenden Nicol mehr zu finden, oder ist er breit und undeutlich, so dreht man das Prisma, bis der Uebergang des farbigen Lichtes aus Blau in Roth gerade in die Mitte des Gesichtsfeldes zu stehen kommt; es ist dann gleichfalls durch den Zeiger angegeben, wie gross die Drehung ist für gelbes Licht.

Besitzt die untersuchte Flüssigkeit eine gelbe, rothe oder bräunliche Farbe, so wird der dunkle Streif sehr breit sein, weil das violette und blaue Licht der beleuchtenden Flamme, welche an sich hinsichtlich der Intensität hinter dem gelben und rothen Lichte derselben weit zurückstehen, dann kräftig von der Flüssigkeit absorbirt werden, und nun an den Stellen kein Licht erscheinen, wo bei gleich stark circumpolarisirenden aber farblosen Flüssigkeiten violettes und blaues Licht aufgetreten wären. In diesem Falle kann man die Bestimmung noch ziemlich genau machen, wenn man den an das rothe Licht angrenzenden Theil des dunklen Gebiets in die Mitte des Gesichtsfeldes stellt und nun an der Theilung des Kreises die von der Flüssigkeit bewirkte Drehung abliest. Auch hier gilt die angezeigte Drehung für gelbes Licht.

Die Benutzung dieser Beobachtung zur quantitativen Bestimmung von Zucker, Albuminstoffen u. s. w. ist oben bei Abhandlung der Bestimmungsmethode dieser Körper für Harn, Blut u. s. w. auseinander gesetzt worden, hier mögen nur einige allgemeine Bemerkungen Platz finden. Die Circumpolarisation kann bekanntlich eine rechtsseitige oder linksseitige sein, man bezeichnet die erstere durch ein +, die zweite durch ein — vor der beobachteten Zahl der Grade. Eine rechtsdrehende Flüssigkeit bewirkt im obigen Apparate, dass der Beobachter das zweite Nicol'sche Prisma nach rechts drehen muss, um den schwarzen Streif oder den Uebergang aus Blau in Roth in die Mitte des Gesichtsfeldes zu bringen, wenn der Zeiger vorher auf 0° gestanden hatte; eine Linksdrehung erfordert den Nicol nach links zu drehen, um dasselbe hier zu erreichen. Eine starke Rechtsdrehung lässt die Farben in der Folge von Blau nach Roth beim Rechtsdrehen des Nicol erscheinen, bei starker Liuksdrehung ist auch die Folge der Farben die gleiche beim Drehen des Nicol nach links.

Um die specifische Drehung eines Körpers zu bestimmen, ist eine Lösung erforderlich, die nur diesen einen circumpolarisirenden Körper enthält. Von dieser Lösung ist der Gehalt in Grammen ausgedrückt für 1 CC. Flüssigkeit zu ermitteln, ausserdem ist bei der Beobachtung die Temperatur und die Länge der Beobachtungsröhre zu bestimmen. Hat man nun von dieser Flüssigkeit nach den obigen Vorschriften die Drehung bestimmt und sie $= \alpha$ gefunden, war ferner die Länge des Beobachtungsrohres $= l$ in Decimeter ausgedrückt, der Gehalt von 1 CC. Flüssigkeit an dem circumpolarisirenden Stoffe $= p$, so ist die spec. Drehung, d. h. die Drehung, welche 1 gr circumpolarisirender Substanz in 1 CC. Flüssigkeit gelöst bei 1 Decimeter Länge der Untersuchungsröhre für gelbes Licht bewirkt:

I. $$(\alpha)_j = \pm \frac{\alpha}{p\,l}$$

z. B. mit einer Flüssigkeit, welche 14,3 gr Substanz in 100 CC. oder 0,143 gr in 1 CC. Flüssigkeit enthält, sei eine 2 Decimeter lange Röhre gefüllt und man habe nach Einlegen derselben in den Polarisationsapparat den analysirenden Nicol 16° nach rechts drehen müssen, um den Uebergang aus Blau in Roth in die Mittte des Gesichtsfeldes zu bringen, so würde $\frac{16}{0{,}143.\ 2} = 55{,}94$ die spec. Drehung dieser Substanz für gelbes Licht, welche gewöhnlich durch das allgemeine Zeichen $(\alpha)_j$ ausgedrückt wird, sein. Für alle genaueren Untersuchungen ist es zweckmässig, zur Beleuchtung des Apparates die Flamme eines Bunsen'schen Brenners zu wählen, in welche eine Sodaperle am Platindraht eingebracht ist. Die für Natriumlicht ermittelte spec. Drehung wird, da die Linie D des Sonnenspectrum dem Natriumlichte entspricht, mit $(\alpha)_D$ bezeichnet. Die für weisses Sonnenlicht gefundenen Werthe der Drehung sind stets höher als die für Natriumlicht gefundenen, wenn die circumpolarisirende Flüssigkeit nicht gelb gefärbt ist und somit die brechbareren Lichtsorten absorbirt.

Bei derartigen Untersuchungen ist es zweckmässig, von der zu untersuchenden Substanz eine hinreichend concentrirte Lösung anzufertigen, mit derselben ein möglichst langes Beobachtungsrohr zu füllen, die Circumpolarisation zu bestimmen und dann das Rohr in eine Schale oder ein Becherglas zu entleeren, mit dem Lösungsmittel einige Male nachzuspülen, die Flüssigkeit zur Trockne zu verdunsten und den festen Rückstand zu wägen. Hat man vorher durch Wägen 1, des trocknen leeren 2, des mit destillirtem Wasser gefüllten Rohrs das Volumen des Röhreninhaltes bestimmt, so giebt ein solches Rohr ein sehr genaues Maass für Flüssigkeiten zu derartigen Untersuchungen, und wenn v den Inhalt des Rohrs in Cubikcentimetern ausdrückt, p' das Gewicht der darin enthaltenen circumpolarisirenden Substanz bezeichnet, so würde unter Benutzung von Natriumlicht und Anwendung der obigen Formel I. die spec. Drehung

II. $$(\alpha)_D = \pm \frac{v\,\alpha}{p'\,l}$$

sein.

Die in den Lehrbüchern angegebenen Formeln beziehen sich meist auf die Biot'sche Formel, welche unbequemer ist, da sie Bestimmung des spec. Gewichts der Flüssigkeit fordert, im Uebrigen jedoch mit obiger identisch ist.

Es ergiebt sich nun aus dieser Formel, dass, wenn man von einer circumpolarisirenden Substanz, die für verschiedene Lösungsconcentrationen gleiche oder wenig veränderliche spec. Drehung besitzt, bereits die spec. Drehung kennt, der Gehalt einer Flüssigkeit an dieser Substanz ohne Weiteres ermittelt wird durch die Beobachtung der Circumpolarisation, wenn man die Länge des Beobachtungsrohrs kennt und ausserdem sich überzeugt hat, dass nicht mehrere circumpolarisirende Körper in der Lösung sich befinden. Ist α die beobachtete Drehung und (α) die spec. Drehung, so ist $p = \frac{\alpha}{(\alpha)\,l}$ das Gewicht des die Drehung bewirkenden Stoffes in Grammen für 1 CC. Lösung. Am Einfachsten geschieht diese Berechnung mittelst der Drehungsconstante $A = \frac{10^5}{\alpha}$ da diese mit dem beobachteten Drehungswinkel multiplicirt ohne Weiteres den Gehalt an dem activen Körper in 1 Liter Flüssigkeit angiebt, wenn die Länge der Flüssigkeitsschicht 100 Mm. beträgt.

Das Soleil'sche Saccharimeter.

Das Soleil'sche Saccharimeter ist weit complicirter als der oben beschriebene Apparat von Mitscherlich, gestattet aber auch bei Weitem genauere Bestimmung des Gehaltes einer Flüssigkeit an einem circumpolarisirenden Körper, besonders wenn dasselbe nach der neueren verbesserten Construction angefertigt ist. Es lässt sich dieses Instrument auch zur Bestimmung der spec. Drehung sehr wohl benutzen, aber nur für schwache Drehungen, — nicht über ± 5°. Figur 13 erläutert dieses Instrument. Es besteht im Wesentlichen aus einem Kalkspathkrystall und Glaslinse, eigenthümlich geschnitten, unter *i*, 2 Nicol'schen Prismen *a* und *d*, das Prima *a* ist um die Sehaxe des Apparates drehbar, das andere *d* ist als feststehend anzusehen. Ausserdem befinden sich im Instrumente Quarzplatten, alle senkrecht zur optischen Axe des Quarzkrystalls geschnitten, und zwar der Soleil'sche Biquarz bei *h*, dessen eine Hälfte die Polarisationsebene eben so weit nach rechts als die andere nach links dreht. Bei *o* befindet sich eine das ganze Gesichtsfeld deckende Platte aus linksdrehendem Quarze, bei *e* und *f*, zwischen *o* und *d*, liegen seitlich horizontal verschiebbare aber vertical stehende Compensationsprismen aus rechtsdrehendem Quarze, welche durch Zahnstangen und ein Zahnrad mit Griff *k* so verschoben werden können, dass das den Apparat durchwandernde polarisirte Licht eine dickere oder dünnere Schicht von rechtsdrehendem Quarze passirt.

Bei einer bestimmten Stellung der Compensatoren wird die Linksdrehung der Platte bei *o* gerade compensirt und der scheinbare Effect auf das Licht ist = 0. Die Compensationsprismen tragen oben eine Scala und Nonius. Der 0-Strich des Nonius fällt mit dem der Scala zusammen, wenn gerade jene Compensation stattfindet, ohne dass eine andere die Polarisationsebene drehende Substanz in den Apparat eingeschaltet ist. Im Kopfe des Apparates befindet sich noch ein kleines Fernrohr *bc*, welches je nach der grösseren oder kleineren Entfernung zwischen *b* und *c* für jedes Auge das deutliche Sehen der Doppelplatte *h* vermittelt, wenn das Licht den Apparat von *m* nach *a* durchwandert und das Auge des Beobachters sich bei *a* befindet. Durch Drehung des Nicol'schen Prisma *a* um seine Axe erhält man verschiedene Helligkeit und Färbung des Gesichtsfeldes. Die Farben beider Hälften sind dagegen ungleich, wenn eine dieser Bedingungen nicht erfüllt ist.

Zur Ausführung von Bestimmungen der Circumpolarisation mit dem Saccharimeter stellt man letzteres, wie es Fig. 13 darstellt, so auf, dass der hellste Theil der Beleuchtungsflamme durch den Ausschnitt des Thoncylinders sein Licht in die Axe des Saccha-

rimeter zum Auge des Beobachters sendet, indem man das Ende *m* des Apparates nahe vor das kurze Ansatzrohr des Thoncylinders bringt. Man dreht dann, während man durch den Apparat sieht, das Nicol'sche Prisma *a* (nach richtiger Einstellung des Fernrohrs bis zum deutlichen Erscheinen der verticalen Linie der Doppelplatte) und sucht eine helle Farbe aus, welche die grösste Empfindlichkeit zeigt, d. h. deren ge-

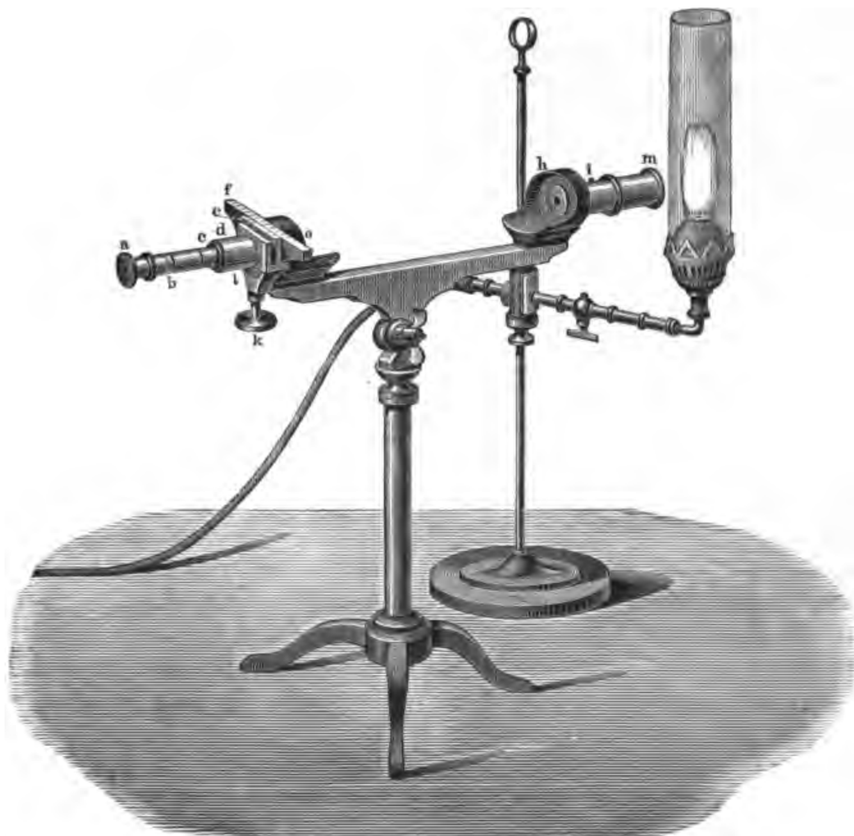


Fig. 13.

ringste Aenderung durch das Auge wahrgenommen wird; ein helles Rosenroth wird diesem Zwecke meist am Besten entsprechen. Ist diese Farbe eingestellt, so dreht man durch Bewegung des Griffes *k* den Compensator hin und her, bis die Färbung beider Hälften des Gesichtsfeldes vollkommen gleich zu sein scheint. Dann beobachtet man, ob der 0-Strich der Scala mit dem 0-Strich des Nonius genau zusammenfällt, wiederholt diese Prüfung einige Male und überzeugt sich auf diese Weise, ob der 0-Punkt der Scala richtig ist. Ist man auf Grund

mehrerer derartiger Proben überzeugt, dass der 0-Punkt nicht ganz richtig ist, so wird derselbe corrigirt, indem man bei genau auf 0 eingestelltem Compensator das Nicol'sche Prisma unter *d* mittelst eines hierzu bestimmten Schlüssels bei *l* hin und her dreht, bis die Färbung beider Gesichtshälften genau gleich geworden ist. Es ist diese Correction jedoch äusserst selten nöthig, der 0-Punkt erhält sich Jahre lang constant.

Man füllt nun eine Röhre (Fig. 12 S. 514) mit der vollkommen klaren zu prüfenden Flüssigkeit. Ist die Färbung derselben nicht allzu dunkel, so thut sie der Genauigkeit keinen wesentlichen Abbruch und macht auf keinen Fall eine Correction nöthig; sehr stark gelb oder gar roth gefärbte Flüssigkeiten geben keine guten Bestimmungen, da in ihnen Farbenunterschiede kaum noch zu erkennen sind und die Farben- und Helligkeitsgleichheit beider Gesichtsfeldhälften bei einer unrichtigen Compensatorstellung eintreten wird. Ziemlich dunkel gefärbte Flüssigkeiten lassen sich oft noch in kurzen Röhren gut untersuchen. Man fügt dann die gefüllte Röhre (ein kleines Luftbläschen, welches in der Röhre zurückgeblieben sein sollte, bringt keinen Nachtheil) zwischen *o* und *h* in den Apparat ein, sucht wieder die möglichst empfindliche Farbe durch Drehung das Nicol *a* und dreht durch Bewegung von *k* die Compensatoren, bis die Färbung beider Gesichtshälften völlig gleich ist. Ist dies erreicht, so liest man auf der Scala des Compensators ab. Steht der 0-Strich des Nonius rechts vom 0-Strich der Scala, so ist die untersuchte Flüssigkeit eine rechtsdrehende, steht er links vom 0-Strich der Scala, so ist sie eine linksdrehende, fallen endlich beide 0-Striche zusammen, so befindet sich in der untersuchten Flüssigkeit keine wahrnehmbare Quantität einer circumpolarisirenden Substanz, oder es sind Substanzen in Lösung, von denen die Rechtsdrehung der einen die Linksdrehung der anderen gerade aufhebt.

Die für medicinische Zwecke gebräuchliche Scala auf den Compensatoren zeigt für Glucose enthaltende Flüssigkeiten den Gehalt (in Grammen ausgedrückt für 100 CC. Flüssigkeit) an, wenn diese Flüssigkeiten nur diesen circumpolarisirenden Körper enthalten und eine 1 Decimeter lange Röhre damit gefüllt im Apparate untersucht wird. Man liest also, nachdem man nach obiger Vorschrift die Farben beider Gesichtshälften gleich gemacht hat, ab, um wie viele Theile der Scala und des Nonius der 0-Strich des Nonius nach rechts gerückt war, und dividirt diese Angabe durch die Länge der Röhre in Decimetern ausgedrückt, um ohne Weiteres den Zuckergehalt der Flüssigkeit zu kennen.

Es erfordert nur kurze Uebung, um die Einstellung der Farben beider Seiten des Gesichtsfeldes genau auszuführen, wenn das Auge des

Beobachters überhaupt hinlängliche Empfindlichkeit für Farbenunterschiede besitzt. Man wiederholt die Bestimmung der Drehung einer Flüssigkeit mehrmals, indem man den Compensator wieder auf 0 stellt und während des Hindurchsehens unter Balanciren der Farben beider Gesichtshälften durch Hin- und Herschieben des Compensator genaue Gleichheit der Farbe wiederherstellt und auf der Scala abliest*).

Die spec. Drehung anderer Substanzen, als Traubenzucker, mittelst des beschriebenen Saccharimeters findet man bei Benutzung von Natriumlicht ungefähr durch die Formel

$$(\alpha)_D = \pm 52{,}6^\circ \frac{\alpha . 100}{p\,l}$$

worin α die an der Scala abgelesene Drehung, p das Gewicht der circumpolarisirenden Substanz in Grammen in 100 CC. Flüssigkeit und l die Länge der untersuchten circumpolarisirenden Flüssigkeitsschicht darstellt ($+ 52{,}6^\circ$ ist die mittlere spec. Drehung der Glucose).

Aus dieser Formel ergiebt sich dann weiter die Bestimmung des Gehaltes einer Flüssigkeit an anderen circumpolarisirenden Stoffen als Zucker, wenn von diesen Stoffen nur einer in der Lösung sich befindet und seine spec. Drehung für gelbes Licht bekannt ist. $p = 52{,}6^\circ . \frac{\alpha}{(\alpha)_D\, l}$ giebt den Gehalt für 100 CC. Flüssigkeit an.

Es ist endlich einleuchtend, dass man auch bei Gegenwart von bekannten Gewichten circumpolarisender Stoffe von bekannter spec. Drehung die spec. Drehung eines anderen gleichzeitig darin vorhandenen Stoffes ermitteln kann, wenn sein Gewicht in einem bestimmten Volumen Flüssigkeit bekannt ist.

Das Polaristrobometer von Wild.

Wild's grosses Polaristrobometer zeichnet sich durch seine sehr allgemeine Anwendbarkeit aus. Das kleine Instrument, welches Wild angegeben hat, bietet schon erhebliche Vortheile gegen den einfachen Mitscherlich'schen Apparat; seine Schilderung kann hier übergangen werden, da es in allen wesentlichen Einrichtungen mit dem grossen Instrumente von Wild übereinstimmt und hauptsächlich nur darin abweicht, dass höchstens 50 Mm. lange Beobachtungsröhren in das kleinere Instrument eingelegt werden können. Fig. 14 (siehe folgende Seite) stellt die Ansicht des grossen Wild'schen Instruments dar, vor demselben der Gasbrenner mit Schornstein von Eisenblech, auf einem seitlichen Träger Sodaperlen an Platindrähten zum Einbringen in die Brennerflamme. Durch einen seitlichen circulären Aus-

*) Der mittlere Beobachtungsfehler bei guten Instrumenten beträgt ± 0,1 Scalentheile. Bei geringer Empfindlichkeit des Auges für Farbenunterschiede benutzt man am Besten Natriumlicht zur Beleuchtung.

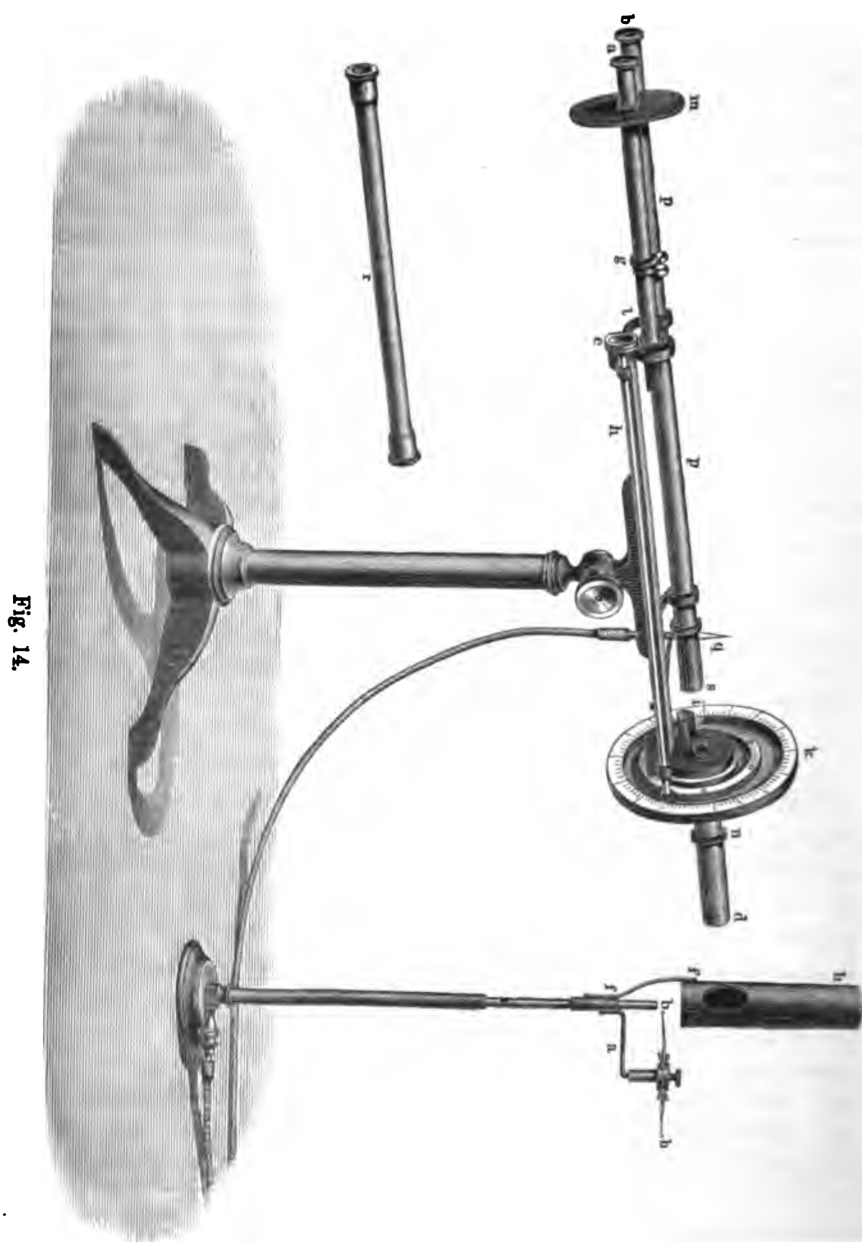


Fig. 14.

schnitt des Schornsteins sendet die Flamme des Brenners das Licht zum Instrumente, in dessen Axe es von *d* nach *a* hindurchgeht und bei *a* das Auge des Beobachters erreicht. Durch ein Diaphragma bei *d* gelangt das Licht zunächst zu einem Nicol, welcher im Centrum der Scheibe *k* mit dieser zusammen um ihre Axe durch ein Zahngetriebe mittelst des Knopfes *c* drehbar ist. An der Peripherie der Scheibe *k* befindet sich eine Kreistheilung in $^1/_5$ Grade getheilt. Das drehbare Nicol'sche Prisma wird gehalten durch den Träger *h*, an welchem andererseits ein kleines Fernrohr, ein Nicol und das Polariskop *a g l*, endlich vor der Kreisscheibe *k* der Indicator *i* befestigt sind. Zwischen Polariskop und drehbarem Nicol ist der Raum für die einzulegenden mit den zu untersuchenden Flüssigkeiten gefüllten Beobachtungsröhren *r*. Der dem Auge des Beobachters zugewandte Theil des Instruments besteht bei *a* aus einem Nicol und Savart'schen Polariskop (zusammengesetzt aus zwei Kalkspathplatten, die unter 45^0 gegen die optische Axe des Krystalls geschnitten und mit ihren Hauptschnitten unter 90^0 gekreuzt auf einander gelegt sind). Dies letztere bewirkt, dass bei der Beobachtung in allen Stellungen der Nicol gegen einander das durch das Instrument gehende Licht horizontale Interferenzstreifen zeigt, wenn nicht die Schwingungsebene des zweiten Nicol parallel oder senkrecht zu derjenigen des in ihn eintretenden Lichtes ist. Am Kopf des Apparates befindet sich ferner, wie bereits angegeben, ein kleines Fernrohr und in dem Rohre an geeigneter Stelle ein Fadenkreuz, dessen Bild bei der Beobachtung genau einzustellen ist. Durch das Fernrohr *b p p s* ferner beobachtet man die Scala der Scheibe *k* und den Indicator *i*, während von dem Schlitzbrenner *q* die Beleuchtung dieser Scala vermittelst eines schräg gestellten, in der Mitte durchbohrten Metallspiegels, der sich am Ende des Fernrohrs befindet, bewirkt wird. Der Träger *h* ist auf dem Stativ *f* horizontal und vertical drehbar, damit man ihn mit *d* genau auf die Natriumflamme einstellen kann.

Um Beobachtungen mit dem Instrumente auszuführen, richtet man dasselbe zunächst mit dem Ende *d* gegen die Gas- oder Alkoholflamme, in welche eine Sodaperle eingeführt ist, stellt das Ocular in *a* so ein, dass man das Fadenkreuz scharf sieht, beleuchtet durch die Flamme *q* die Scala und dreht mittelst des Knopfes *c* die Scheibe *k* mit dem analysirenden Nicol. Es zeigen sich schwarze Interferenzstreifen horizontal das Gesichtsfeld durchsetzend, welche bei der Drehung des einen Nicol bald dunkler, bald wieder heller werden, aber nur dann vollständig verschwinden aus der Mitte des Gesichtsfeldes, wenn die beiden Nicol entweder gleiche Stellung haben oder

genau unter 90° gegen einander gekreuzt sind. Fig. 15 erläutert die Erscheinung der Interferenzstreifen und ihr Verschwinden im Gesichtsfelde mit dem Fadenkreuz. Dreht man also den Nicol um seine Axe einmal ganz herum, so verschwinden die Interferenzstreifen 4 Mal entsprechend den 4 Quadranten des Kreises. Die Stellung der Nicol, bei welcher die Interferenzstreifen verschwinden, lässt sich an der Kreistheilung genau ablesen.

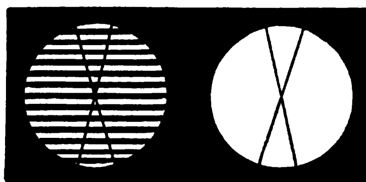


Fig. 15.

Legt man nun, nachdem an der Scala die Stellung festgestellt ist, bei welcher die Interferenzstreifen verschwunden sind, eine mit drehender Flüssigkeit gefüllte Röhre zwischen den drehbaren Nicol und das Polariskop ein, so wird das Verschwinden der Interferenzstreifen nicht mehr bei der Stellung des Nicol stattfinden, bei welcher dies vor Einlegen der Röhre der Fall war. Man sucht jetzt durch Drehung des Knopfes *c* die Stellung des Nicol auf, bei welcher jetzt die Interferenzstreifen verschwunden sind, liest durch das Fernrohr an der Scala ab, wie weit man nach der einen oder anderen Seite hat den Nicol drehen müssen, um das Verschwinden der Streifen herbeizuführen, und findet in der Differenz der beiden Ablesungen den Winkel der Rotation, welche die Flüssigkeit ausübt. Zweifelt man, ob die Flüssigkeit rechts oder links drehend sei, so untersucht man die Flüssigkeit sowohl in einem 200 Mm. als in einem 100 Mm. langen Rohre; die bei der letzten Beobachtung erhaltene Drehung muss die Hälfte der ersteren betragen. Bei der Auswahl der Beobachtungsröhre ist darauf zu achten, dass man durch die mit Flüssigkeit gefüllte Röhre, wenn man sie gegen das Licht hält, gut hindurch sehen kann, dass also nicht zuviel Licht von der Flüssigkeit absorbirt wird. Ist dieselbe vollkommen klar und nur wenig gefärbt, so benutzt man die längste Röhre; bei stark gefärbten oder etwas opalescirenden Flüssigkeiten ist es wohl stets zweckmässig, sich mit einer kürzeren Röhre zu begnügen.

Ist die Drehung nicht sehr bedeutend, so kann man auch mit dem von einer weissen Wand oder den Wolken reflectirten Sonnenlicht oder mit Lampenlicht Bestimmungen ausführen, bei etwas stärkeren Drehungen wird die Lage der Schwingungsebenen der einzelnen Spectraltheile zu

verschieden, sodass bei keiner Stellung des Nicol *a* die Interferenzstreifen ganz verschwinden, und es ist daher im Allgemeinen zweckmässig, gleich von vorn herein sich des Natriumlichtes zu bedienen. Kennt man die Drehungsconstante des in der Flüssigkeit enthaltenen activen Körpers für Natriumlicht, so berechnet man leicht aus der durch die Beobachtung ermittelten Drehung den Gehalt davon in Grammen für 1 Liter Lösung; ist der Gehalt im Liter bekannt, so ergiebt sich aus der Beobachtung die spec. Drehung — beides nach denselben Formeln, welche für diese Berechnungen nach den Beobachtungen mit dem Mitscherlich-schen Apparate S. 517 angegeben sind.

Halbschattenpolarimeter mit Lippich's Polarisator von Landolt.

Die Halbschattenapparate bestehen 1) wie die übrigen zur Messung der Circularpolarisation verwendeten Apparate aus einem feststehenden und einem um die Sehaxe drehbaren Nicolschen Prisma, 2) aus einer Vorrichtung, durch welche die Lage der Polarisationsebene in der einen Hälfte des Gesichtsfeldes um einen Winkel von wenigen Graden gegen die der anderen Hälfte abweicht, 3) einer Collimatorlinse zur Parallelstellung der Lichtstrahlen, welche das Instrument beleuchten, 4) einem Fernrohre zur scharfen Einstellung der Grenzlinie beider Gesichtshälften für das Auge und 5) einer Kreistheilung mit Nonius zur Messung der Drehungen des Analysators.

Bei der Ausführung der Messung soll das drehbare Nicolsche Prisma so eingestellt werden, dass die Beschattung der einen Hälfte des Gesichtsfeldes gleich der der anderen wird, beide also nicht vollständig dunkel und gegen die Lage der Polarisationsebene des Polarisators die des Analysators nicht senkrecht gestellt ist, aber der Winkel dieser Stellung gegen diese Lage beider Seiten gleich und zugleich von 90° nicht weit entfernt ist.

Von allen Halbschattenpolarimetern, welche seit dem von Jelett[1]) nach diesem Princip zuerst construirten Instrumente bekannt geworden sind, zeichnen sich die mit Lippich's Polarisator[2]) versehenen Apparate, welche Landolt[3]) construirt hat, durch die grosse Schärfe aus, mit welcher sie Bestimmungen auszuführen gestatten. Der in Fig. 16 ab-

---

[1]) Rapports of the British Association 1860 T. 2 p. 13., vergl. hinsichtlich der übrigen Halbschattenapparate, von denen besonders der von Laurent sehr verbreitet ist, Landolt, Das optische Drehungsvermögen organischer Substanzen u. s. w. Braunschweig, Wiegand und Sohn 1879 S. 112.

[2]) Naturwissenschaftl. Jahrbuch Lotos, N. F. Bd. 2. Prag, Tempsky 1880. Wien. Acad. Sitzungsber. Bd. 85. II. Februar 1882.

[3]) Zeitschr. f. Instrumentenkunde April 1883 S. 121—127.

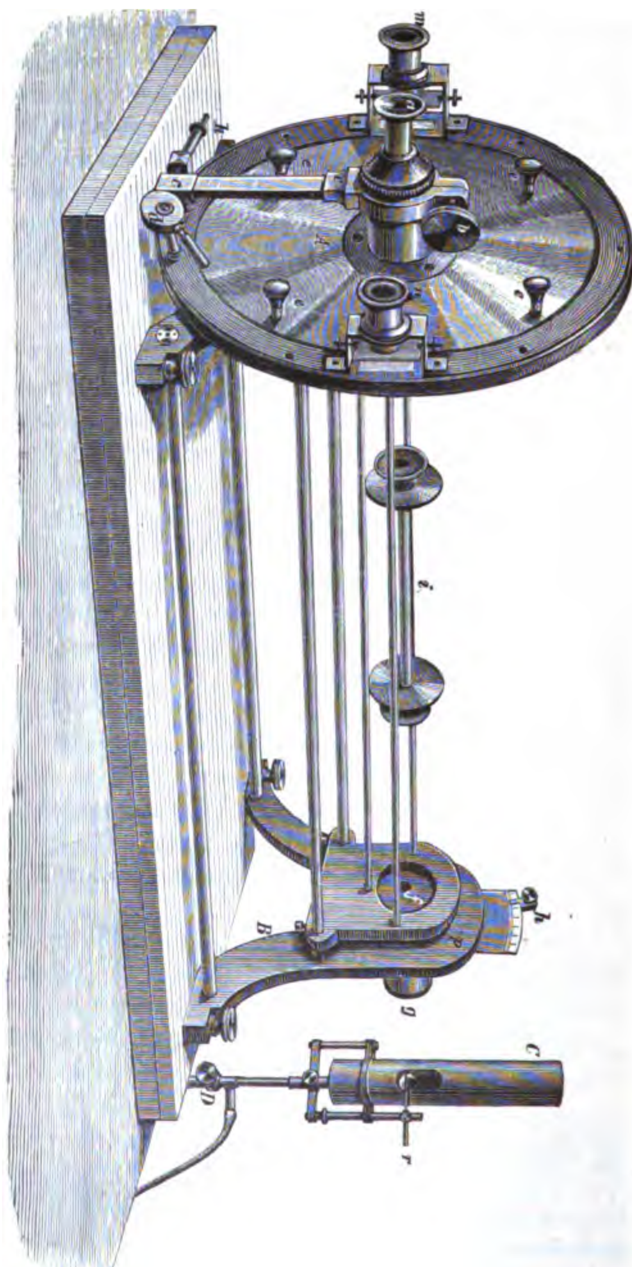


Fig. 16.

gebildete Apparat ist ausgeführt von der Werkstätte F. Schmidt und Haensch in Berlin. In dieser Abbildung ist nicht dargestellt eine von Landolt eingeführte Schlittenvorrichtung, durch welche bei horizontaler seitlicher Verschiebung von 2 nebeneinander liegenden Beobachtungsröhren (die eine mit der zu prüfenden Flüssigkeit, die andere mit Wasser gefüllt) schnell bald die eine, bald die andere in die Axe des Apparates zwischen Licht und Auge gebracht werden kann, um Nullpunktbestimmung und Rotationsbestimmung schnell auf einander folgen zu lassen.

Der in Fig. 16 dargestellte Apparat besteht aus 2 starken gusseisernen unten je mit 2 Füssen versehenen Platten A und B, welche auf starkem horizontalen Brett aufgeschraubt und durch 7 starke vernickelte Stäbe mit einander verbunden sind. Von diesen Stäben dienen die 3 oberen zur Fixirung der aufgelegten Röhre i, in welcher die zu untersuchende Flüssigkeit sich befindet, während die 4 unteren Stäbe die feste Verbindung von A und B bewirken. Bei g folgt auf das Diapahrgma eine Convexlinse von ungefähr 50 Mm. Brennweite, dann zwischen g und f der Lippich'sche Polarisator bestehend aus einem um die Axe des Apparates drehbaren Glan'schen Prisma, welches das ganze Gesichtsfeld bedeckt und einem feststehenden Glan'schen Prisma, welches nur die eine Hälfte des Gesichtsfeldes bedeckt. Dann folgt bei f ein Diaphragma. Das durch dasselbe hindurchgehende von g herkommende Licht geht auf der einen Hälfte des Gesichtsfeldes durch beide Glan'sche Prismen, auf der andern Hälfte nur durch das drehbare. Das erstere Prisma kann von 0^{0} bis 5^{0} gegen das feststehende gedreht werden. Die Grösse des Winkels wird an dem festschraubbaren Zeiger und Gradbogen bei h abgelesen.

Im Centrum von *A* ist das analysirende Nicol'sche Prisma fest in die drehbare Scheibe eingesetzt, der Rand dieser in seiner Umfassung mit der Hand an den Knöpfen *e e e e* drehbaren Scheibe in Grade, halbe und viertel Grade (bei 30 Cm. Durchmesser) getheilt. Auf der Führung der Scheibe befindet sich am Rande beiderseits ein Nonius, welcher die Viertelgrade in 25 Theile theilt, so dass mit den Loupen *m n* hundertel Grade abgelesen werden können.

Mit der Hand wird die Einstellung des Analysators nur so weit ausgeführt, dass bei der Beobachtung durch das Fernrohr *a* die beiden Gesichtshälften einigermassen gleich beschattet erscheinen. Man schraubt dann die Schraube *b* fest, durch welche der Zeiger *c c*, der bis dahin auf dem Rohr des Analysators leicht gleiten konnte, auf demselben festgestellt wird, und beobachtet nun durch *a* das Gesichtsfeld, während man den Excenter *d* hin und her bewegt, bis beide Hälften des Ge-

sichtsfeldes gleiche Beschattung zeigen. Das Stäbchen *k*, mittelst einer Feder in seiner Führung gegen den Zeiger *c c* gedrückt, lässt denselben der Bewegung des Excenter *d* genau folgen.

Die Genauigkeit der Einstellung ist in hohem Grade abhängig von der Intensität und Gleichmässigkeit der Belichtung. Es hat sich zweckmässig erwiesen, durch die in *C D* dargestellte Bunsen'sche Lampe mit weitem, innen und aussen geschwärzten Cylinder die Belichtung auszuführen. In den unteren Theil des seitlichen Ausschnittes dieses Cylinders wird durch horizontale Drehung ein Platinlöffelchen *r* mit einem kurzen Büschel von Platindrähten versehen und mit Stücken Steinsalz gefüllt in die Flamme, welche nur schwach bläulich leuchten darf, eingeführt und durch das geschmolzene, zwischen die Platindrähte aufgesaugte Salz bei seiner Verdunstung eine intensive Natriumflamme erzeugt. Man stellt diese Beleuchtungsvorrichtung in der Weise vor den Halbschattenapparat, dass nur das Licht aus der oberen Abtheilung des Ausschnittes, nicht von den Platindrähten, zu ihm gelangt.

Um Rotationsbestimmungen mit dem Instrumente auszuführen, wird nach Richtigstellung der Lampe gegen dasselbe die Röhre *i* herausgenommen, die Schraube *b* gelöst und nun durch Drehung der Scheibe *A* an den Knöpfen *e e e e* dem Analysator eine Stellung gegeben, bei welcher beide Hälften des Gesichtsfeldes, die bei der Beobachtung durch das Fernrohr *a* sich dem Auge darbieten, gleiche Beschattung zeigen, dann wird *b* festgeschraubt und nun bei Beobachtung durch *a* möglichst genau gleiche Beschattung des Gesichtsfeldes durch Bewegung des Zeigers *c c* mittelst Drehung des Excenter *d* an seiner Handhabe herbeigeführt, dann am Rande der Scheibe *A* durch die Loupen *m* und *n* an Gradeintheilung und Nonius die Stellung abgelesen. Diese Bestimmung wird oft wiederholt, auch das eine Mal von der einen, das andere Mal von der anderen Seite her die Gleichstellung herbeigeführt, schliesslich aus allen Beobachtungen das Mittel berechnet.

Durch Verschiebung des Zeigers *h* an seiner Scala und hierdurch bewirkter Drehung des das ganze Gesichtsfeld deckenden Glan'schen Prisma kann man dann erkennen, bei welchem Winkel der Polarisationsebene desselben zu derjenigen des Polarisators für die herrschende Belichtung die schärfste Bestimmung erzielt werden kann.

Nachdem auf dem beschriebenen Wege die Bestimmung des 0-Punktes mit möglichster Schärfe ausgeführt ist, wird die Röhre *i* mit der zu prüfenden Flüssigkeit eingelegt und nun die Bestimmung in der angegebenen Weise wiederholt. Für möglichst genaue Bestimmung ist 1) die Länge der Flüssigkeitsröhre möglichst gross zu wählen und die Temperatur durch Benutzung einer Röhre entsprechend Fig. 12 mit um-

spülendem Wasser von bestimmter Temperatur zu reguliren. Röhren von 20 Cm. sind die gebräuchlichsten, solche von 50 Cm. oft zweckmässig. Es ist ohne Schwierigkeit sowohl durch Benutzung der Flammen von anderen Metallverbindungen, Lithium, Thallium u. s. w. und eines kräftigen Sonnenspectrums im dunklen Raume entworfen mittelst Heliostat, Spalt, Collimator und Prisma auch für verschiedene andere Lichtarten, als die der Natriumflamme, die Drehungsbestimmungen für Flüssigkeiten mit diesem Halbschattenpolarimeter auszuführen.

Die Berechnungen der Drehungen, der spec. Drehungen und des Gehaltes an optisch aktiver Substanz im bestimmten Volumen einer Flüssigkeit werden in gleicher Weise ausgeführt, wie es oben S. 517 angegeben ist.

Untersuchung der Fluorescenz.

Fluorescenz findet sich bezüglich der in höheren Thieren vorkommenden Substanzen in auffallenderem Grade nur selten. Stark fluoresciren die Lösungen der Gallensäuren in concentrirter Schwefelsäure; Albuminlösungen, Harn u. s. w. zeigen schwache Fluorescenz.

Um eine Flüssigkeit auf Fluorescenz zu prüfen, lässt man Sonnenlicht, durch eine Linse concentrirt, in die Flüssigkeit in der Weise einfallen, dass die Spitze des gebildeten Lichtkegels sich in der Flüssigkeit befindet. Erkennt man den Lichtkegel in der einen oder anderen Farbe leuchtend und bleibt dieses Leuchten unverändert, wenn man den Kegel durch ein Nicol'sches Prisma betrachtet und dies Prisma vor dem Auge um seine Längsaxe herumdreht, so ist die Flüssigkeit fluorescirend. Wird dagegen der leuchtende Kegel bei der Drehung des Nicol dunkler und bei weiterer Drehung wieder heller, so rührt die Zerstreuung des Lichtes nicht von Fluorescenz her, sondern von feinen in der Flüssigkeit suspendirten Theilchen.

Ueber eine in den Flüssigkeiten von Säugethieren in geringerer Menge sehr verbreitete chininähnlich stark fluorescirende Substanz vergl. Bence-Jones Royal Instit. of Great Brit. March. 23. 1866.

Anhang II.

Tabelle I.

Volumina und specifische Gewichte des Wassers bei den verschiedenen Temperaturen nach Kopp.

Temperatur. Grade.	A. Volumen des Wassers (bei 0° = 1).	B. Spec. Gewicht des Wassers (bei 0° = 1)	Temperatur. Grade.	A. Volumen des Wassers (bei 0° = 1).	B. Spec. Gewicht des Wassers (bei 0° = 1).
0	1,00000	1,000000	17	1,00101	0,988992
1	0,99995	1,000053	18	1,00118	0,998817
2	0,99991	1,000092	19	1,00137	0,998631
3	0,99989	1,000115	20	1,00157	0,998435
4	0,99988	1,000123	21	1,00178	0,998228
5	0,99988	1,000117	22	1,00200	0,998010
6	0,99990	1,000097	23	1,00223	0,997780
7	0,99994	1,000062	24	1,00247	0,997541
8	0,99999	1,000014	25	1,00271	0,997293
9	1,00005	0,999952	26	1,00295	0,997035
10	1,00012	0,999876	27	1,00319	0,996767
11	1,00021	0,999785	28	1,00347	0,996489
12	1,00031	0,999686	29	1,00376	0,996202
13	1,00043	0,999572	30	1,00406	0,995908
14	1,00056	0,999445	35	1,00570	
15	1,00070	0,999306	40	1,00753	
16	1,00085	0,999155			

Tabelle II.

Atomgewichte der Elemente, welche in diesem Handbuche in Rechnung kommen.

Barium	$\overset{\text{II}}{\text{Ba}}$	136,86.	Natrium	Na	22,995.
Calcium	$\overset{\text{II}}{\text{Ca}}$	39,91.	Phosphor	$\overset{\text{V}}{\text{P}}$	30,96.
Chlor	Cl	35,37.	Platin	$\overset{\text{IV}}{\text{Pt}}$	194,3.
Eisen	$\overset{\text{III}}{\text{Fe}}$	55,88.	Quecksilber	$\overset{\text{II}}{\text{Hg}}$	199,8.
Fluor	Fl	19,06.	Sauerstoff	$\overset{\text{II}}{\text{O}}$	15,96.
Kalium	K	39,03.	Schwefel	$\overset{\text{II}}{\text{S}}$	31,98.
Kohlenstoff	$\overset{\text{IV}}{\text{C}}$	11,97.	Silber	Ag	107,66.
Kupfer	$\overset{\text{II}}{\text{Cu}}$	63,18.	Silicium	$\overset{\text{IV}}{\text{Si}}$	28,00.
Lithium	Li	7,01.	Stickstoff	$\overset{\text{III}}{\text{N}}$	14,01.
Magnesium	$\overset{\text{II}}{\text{Mg}}$	23,94.	Wasserstoff	H	1,00.
Mangan	$\overset{\text{III}}{\text{Mn}}$	54,8.			

Verhältnisszahlen zur Berechnung der Zusammensetzung von Aschen u. s. w. aus den einzelnen Bestimmungen.

Chlorsilber : Chlor . . . . = 1 : 0,24729
AgCl Cl

Chlorsilber : Chlorwasserstoff . . . . = 1 : 0,25428
AgCl ClH

Chlorsilber : Chlornatrium . . . . = 1 : 0,40806
AgCl NaCl

Schwefelsaurer Baryt : Schwefel . . . . = 1 : 0,13744
$BaSO_4$ S

Schwefelsaurer Baryt : Schwefelsäure . . . . . . = 1 : 0,41181
$BaSO_4$ SO_4

Schwefelsaurer Baryt : Barium . . . . = 1 : 0,58819
$BaSO_4$ Ba

Kaliumplatinchlorid : Kalium K_2PtCl_6 K_2	=	1 : 0,16109
Kaliumplatinchlorid : Chlorkalium K_2PtCl_6 $2KCl$	=	1 : 0,30707
Ammoniumplatinchlorid : Ammoniak $(NH_4)_2PtCl_6$ $2NH_3$	=	1 : 0,07687
Platin : Ammoniak Pt $2NH_3$	=	1 : 0,17509
Chlornatrium : Natrium $NaCl$ Na	=	1 : 0,39399
Kohlensaurer Kalk : Calcium $CaCO_3$ Ca	=	1 : 0,40006
Calciumoxyd : Calcium CaO Ca	=	1 : 0,71434
Kohlensäure : Kohlensaurer Kalk CO_2 $CaCO_3$	=	1 : 2,27296
Pyrophosphorsaure Magnesia : Magnesium $Mg_2P_2O_7$ Mg_2	=	1 : 0.21614
Pyrophosphorsaure Magnesia : Phosphorsäure $Mg_2P_2O_7$ $2PO_4$	=	1 : 0,85590
Phosphorsaures Eisenoxyd : Phosphorsäure $FePO_4$ PO_4	=	1 : 0,62915
Phosphorsäure : Phosphorsaures Natron PO_4 Na_2HPO_4	=	1 : 1,49568
Phosphorsäure : Phosphorsaurer Kalk $2PO_4$ $Ca_3(PO_4)_2$	=	1 : 1,63149
Phosphorsaures Eisenoxyd : Eisen $FePO_4$ Fe	=	1 : 0,37085
Eisenoxyd : Eisen Fe_2O_3 $2Fe$	=	1 : 0,70008
Mangansulfür : Mangan MnS Mn	=	1 : 0,63148

Alphabetisches Register.

A.

B.

C.

D.

E.

F.

G.

H.

I.

J.

K.

L.

M.

N.

O.

P.

Q.

R.

S.

V.

W.

X.

Z.



Wilhelm Gronau's Buchdruckerei, Berlin W.



